



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA QUE POSEE LA NICOTINA SOBRE  
LOS VALORES DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA, MEDIANTE EL USO DE  
RATONES *Mus musculus* CEPBALB/c CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA  
POR ALOXANO”.**

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICO – FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR:**

**MARCELA ALEJANDRA BONIFAZ GUAMÁN**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2013**

### **DEDICATORIA**

*Dedico este trabajo de investigación al arquitecto de la vida “**Dios**”, por haberme brindado la oportunidad de vivir; a mis queridos padres que a más de su preocupación han sido los promotores de que en el futuro sea una profesional útil para la sociedad; a mis hermanos y amigos*

*A todos ellos dedico este trabajo con mucho amor y cariño, siempre los llevaré en mi corazón.*

**Marcela Alejandra Bonifaz Guamán**

### **AGRADECIMIENTO**

*A Dios por su amor y sobre todo por su infinita misericordia ya que me ha permitido llegar a culminar esta etapa de mi vida*

*A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por abrirme las puertas del aprendizaje diario.*

*A los Drs. Oswaldo Duque y Francisco Portero Miembros del Tribunal de Tesis por el gran aporte brindado en la elaboración del trabajo, de la misma manera para el Dr. Wilson Moncayo, y por medio del el al Laboratorio de Química Forense de la Policía de Chimborazo.*

*A Wilson Naranjo y Geovanny Fiallos quienes con su valiosa colaboración hicieron posible la culminación del proyecto de tesis.*

**Marcela Alejandra Bonifaz Guamán**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA QUE POSEE LA NICOTINA SOBRE LOS VALORES DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA, MEDIANTE EL USO DE RATONES *Mus musculus* CEPA BALB/c CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA POR ALOXANO”, de responsabilidad de la señorita egresada Marcela Alejandra Bonifaz Guamán ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dr. Silvio Álvarez <b>DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS</b>	_____	_____
Dr. Iván Ramos <b>DIRECTOR DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA</b>	_____	_____
Dr. Oswaldo Duque <b>DIRECTOR DE TESIS</b>	_____	_____
Dr. Francisco Portero <b>MIEMBRO DE TRIBUNAL</b>	_____	_____
Lic. Carlos Rodríguez <b>DIRECTOR DEL CENTRO DE DOCUMENTACIÓN</b>	_____	_____
<b>NOTA DE TESIS ESCRITA</b>	_____	

Yo, Marcela Alejandra Bonifaz Guamán, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

---

**MARCELA ALEJANDRA BONIFAZ GUAMÁN**

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADA	Asociación Americana de Diabetes
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADO	Antidiabético oral
As	Arsénico
ATP	Trifosfato de adenosina
Be	Berilio
CAD	Cetoacidosis diabética
Cd	Cadmio
CO	Monóxido de carbono
COHb	Carboxihemoglobina
Cr	Cromo
Cu	Cobre
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
dL	Decilitros
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DMG	Diabetes Mellitus Gestacional
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
HHNC	Estado hiperosmolarhiperglucémico no cetósico
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
Fe	Hierro
g	Gramos
GAA	Glucemia de ayuno alterada
GLP-1	Péptico glucagonoide 1
GLUT2	Transportador de glucosa familia 2
H1	Hipótesis alternativa
H2	Hidrógeno
H2O2	Peróxido de hidrógeno
HAP	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
Hb	Hemoglobina
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HCl	Ácido clorhídrico
HCN	Ácido cianhídrico
Ho	Hipótesis nula
IA-2	Antitirosina fosfatasa
IARC	Agencia Internacional de Investigación del Cáncer
ICA	Anticélulas de islotes
IDF	Federación Internacional de Diabetes
IMC	Índice de masa corporal
ITG	Intolerancia a la glucosa

K <sup>+</sup>	Catión Potasio
L	Litros
LADA	Diabetes autoinmune latente del adulto
MAO	Monoamino oxidasa
mg/dL	Miligramos por cada decilitro
mL	Mililitros
N	Normal
Na	Sodio
NH <sub>3</sub>	Amoníaco
Ni	Níquel
NNK	Nitrosamina cancerígeno
NO	Monóxido de nitrógeno
NO <sub>2</sub>	Dióxido de nitrógeno
NPH	Neutral ProtamineHagedorn
O <sub>2</sub>	Oxígeno
OMS	Organización Mundial de la Salud
P	Fósforo
p/p	Peso/peso
P-450	El citocromo P450
pH	Potencial de hidrógeno
PI-3	Vía de la cinasa de fosfatidilinositol 3
Po120	Isótopo de polonio
PP	Polipéptido pancreático
PTOG	Prueba de tolerancia oral a la glucosa
SNC	Sistema Nerviso Central
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
Zn	Zinc

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

<b>1.MARCO TEÓRICO</b>	<b>1</b>
1.1 El páncreas	1
1.1.1 Hormonas pancreáticas	1
1.1.1.1 Glucagón	1
1.1.1.2 Somatostatina	2
1.1.1.3 Polipéptido Pancreático	2
1.1.1.4 Insulina	2
1.2 Diabetes mellitus	6
1.2.1 Clasificación etiológica de la DM	6
1.2.1.1 Diabetes Mellitus Tipo 1	7
1.2.1.2 Diabetes Mellitus Tipo 2	7
1.2.1.3 Otros tipos específicos de diabetes	8
1.2.1.4 Diabetes Mellitus Gestacional	9
1.2.2 Etapas de la DM	9
1.2.2.1 Normogluemia	9
1.2.2.2 Hipergluemia	9
1.2.3 Diagnóstico la DM	10
1.2.3.1 Síntomas de diabetes	10
1.2.3.2 Medición de glucemias	11
1.2.4 Control clínico y metabólico de la DM2	13
1.2.5 Hemoglobina glucosilada	14
1.2.6 Métodos para evaluar el control de la glucemia	16
1.2.6.1 Automonitoreo	16
1.2.6.2 Monitoreo en el laboratorio	17
1.2.6.3 Monitoreo ambulatorio continuo	17
1.2.7 Tratamiento educación e intervenciones orientadas al estilo de vida	17
1.2.7.1 Intervenciones orientadas al estilo de vida	18
1.2.7.2 Dieta y ejercicio físico	18
1.2.8 Tratamiento farmacológico	19
1.2.8.1 Insulinoterapia	21
1.2.9 Complicaciones de la diabetes mellitus	23
1.2.9.1 Complicaciones agudas severas de la DM	23
1.2.9.2 Complicaciones crónicas de la DM	31
1.3 El tabaco	39
1.3 El cigarrillo	40
1.3.1 Toxicocinética del humo	42
1.3.1.2 Monóxido de carbono	44
1.3.1.3 Gases irritantes y sustancias cancerígenas	45



1.3.1.4 Radicales libres y oxidantes .....	46
1.3.1.5 Metales y elementos radioactivos (Cd, Be, As, Ni, Cr y Po 210) .....	47
1.3.2 Toxicidad por el hábito de fumar .....	49
1.3.2.1 Tabaco, hipertensión arterial y diabetes .....	52
1.3.2.2 Otros efectos tóxicos .....	52
1.3.2.3 Efectos tóxicos en fumadores pasivos .....	53
1.4 Experimentación basada en animales .....	55
1.4.1 Reemplazo .....	56
1.4.2 Reducción .....	56
1.4.3 Refinamiento .....	56
1.4.4 Ratón de laboratorio .....	57
1.4.4.1 Cepa BALB/c .....	58
1.4.5 Vías de administración .....	58
1.4.5.1 Vía enteral .....	59
1.4.5.2 Vía parenteral .....	59
1.4.6 Extracción de sangre .....	59
<b>2. PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>61</b>
2.2 Material, equipos y reactivos .....	61
2.2.1. Material biológico .....	61
2.2.1.1 Población .....	61
2.2.1.2 Clasificación científica .....	61
2.2.1.3 Descripción .....	62
2.2.1.4 Condiciones .....	62
2.2.1.5 Valores referenciales .....	62
2.2.2 Materia prima .....	62
2.2.2.1 Nicotina .....	62
2.2.3 Equipos .....	63
2.2.4 Materiales de laboratorio y otros .....	63
2.2.5 Reactivos .....	64
2.3 Metodología .....	64
2.3.1 Diseño experimental .....	64
2.3.2 Fase experimental .....	65
2.3.2.1 Obtención de nicotina .....	65
2.3.2.2 Inducción de hiperglucemia en ratones .....	66
2.3.2.3 Determinación de glucosa en sangre .....	66
2.3.2.4 Administración de nicotina .....	67
2.3.2.6 Determinación de hemoglobina glicosilada .....	67
2.3.2.7 Examen anatomopatológico .....	67
2.3.2.8 Análisis estadístico .....	67
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>70</b>
<b>4. CONCLUSIONES .....</b>	<b>82</b>
<b>5. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>83</b>
<b>6. RESUMEN Y SUMMARY .....</b>	<b>84</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>85</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>96</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Peso corporal inicial y final en g de los ratones <i>Mus musculus</i> , de los grupos blanco y control con aloxano. Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Diciembre 2012.....	70
CUADRO No. 2	Peso corporal inicial y final en g de los ratones <i>Mus musculus</i> , del grupo con aloxano más administración de nicotina en dosis bajas. Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Diciembre 2012.....	71
CUADRO No. 3	Peso corporal inicial y final en g de los ratones <i>Mus musculus</i> , del grupo con aloxano más administración de nicotina en dosis altas. Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Diciembre 2012.....	72
CUADRO No. 4	Valores de glucosa en mg/dL de los ratones <i>Mus musculus</i> en el proceso de inducción de la hiperglucemia. Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Diciembre 2012.....	73
CUADRO No. 5	Valores de glucosa en mg/dL de los ratones <i>Mus musculus</i> del grupo control con aloxano. Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Diciembre 2012.....	74
CUADRO No. 6	Valores de glucosa en mg/dL de los ratones <i>Mus musculus</i> del grupo aloxanocon administración de nicotina en dosis bajas. Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Diciembre 2012.....	75
CUADRO No. 7	Valores de glucosa en mg/dL de los ratones <i>Mus musculus</i> del grupo aloxanocon administración de nicotina en dosis altas. Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Diciembre 2012.....	76

CUADRO No. 8	Valores de hemoglobina glicosilada de los ratones <i>Mus musculus</i> Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Diciembre 2012.....	77
CUADRO No. 9	Análisis de varianza para la comparación de la media de los valores de glucosa de todos los grupos al final del experimento.....	78
CUADRO No. 10	Valor crítico para comparar las diferencias entre las medias de los grupos al final de la experimentación.....	79
CUADRO No. 11	Valores de glucosa en mg/dL de los ratones <i>Mus musculus</i> de los grupo 2, 3 y 4 en diferentes tiempos específicos.....	80
CUADRO No. 12	Protocolo histopatológico de los ratones <i>Mus musculus</i> . Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Diciembre 2012.	81

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Otros tipos específicos de diabetes mellitus.....	8
TABLA No. 2	Criterios para el diagnóstico de DM, utilizando diferentes muestras de sangre y diferentes unidades de medida.....	12
TABLA No. 3	Metas para el control de los parámetros glucémico.....	16
TABLA No. 4	Combinaciones de antidiabéticos orales que han probado ser efectivas en el manejo de personas con DM2.....	21
TABLA No. 5	Clasificación de las formas clínicas más comunes de la neuropatía diabética.....	39
TABLA No. 6	Algunos componentes de la fase de partículas del humo del cigarrillo.....	41
TABLA No. 7	Algunos componentes de la fase gaseosa del humo del cigarrillo.....	41
TABLA No. 8	Características de los diversos componentes del humo de cigarrillo en la corriente principal y secundaria.....	42
TABLA No. 9	Tabla general de análisis de varianzas (ANOVA).....	68

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Peso corporal del grupo blanco y grupo control con aloxano.....	70
GRÁFICO No. 2	Peso corporal del grupo con aloxano más nicotina en dosis bajas.....	71
GRÁFICO No. 3	Peso corporal del grupo con aloxano más nicotina en dosis altas.....	72
GRÁFICO No. 4	Valores de glicemia durante el proceso de inducción de diabetes.....	73
GRÁFICO No. 5	Glicemia del grupo control con aloxano.....	74
GRÁFICO No. 6	Glicemia del grupo con aloxano más nicotina en dosis bajas.....	75
GRÁFICO No. 7	Glicemia del grupo con aloxano más nicotina en dosis altas.....	76
GRÁFICO No. 8	Resultados de hemoglobina glicosilada.....	77
GRÁFICO No. 9	Diagrama de caja y bigotes para los grupo 2, 3 y 4 en diferentes tiempos específicos.....	80

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Secreción de insulina.....	3
FIGURA No. 2	Vías de transducción de señales de la insulina en el músculo esquelético.....	5
FIGURA No. 3	Estructura de la hemoglobina .....	14
FIGURA No. 4	Componentes del cigarrillo.....	40

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Periodo de readaptación y estandarización de pesos de los ratones <i>Mus musculus</i> . Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, ESPOCH, Diciembre 2012.....	96
ANEXO No. 2	Comparación de pesos de los grupos blanco y control con aloxano en zona de aceptación y rechazo a dos colas.....	97
ANEXO No. 3	Comparación de pesos del grupo con aloxano más administración de nicotina en dosis bajas, en zona de aceptación y rechazo a una cola.....	98
ANEXO No. 4	Comparación de pesos del grupo con aloxano más administración de nicotina en dosis altas, en zona de aceptación y rechazo a una cola.....	99
ANEXO No. 5	Región de aceptación y rechazo del análisis de varianzas del grupo 2, durante el proceso de experimentación.....	100
ANEXO No. 6	Prueba de Tukey al 5% y región de aceptación y rechazo del análisis de varianzas del grupo 3, durante el proceso de experimentación.....	101
ANEXO No. 7	Regresión lineal de los valores de glucosa mayores a 600 mg/dL.....	102
ANEXO No. 8	Prueba de Tukey al 5% y región de aceptación y rechazo del análisis de varianzas del grupo 4, durante el proceso de experimentación.....	103
ANEXO No. 9	Región de aceptación y rechazo del análisis de varianzas al final de la experimentación.....	104

## INTRODUCCIÓN

La Diabetes es una enfermedad conocida desde épocas muy antiguas; a lo largo de los años su incidencia ha ido incrementándose drásticamente, es así que el número de personas que tienen esta enfermedad en el mundo llegan hasta los 200 millones según las cifras que posee en la actualidad la Organización Mundial de la Salud, OMS, además esta calcula que en el 2025 el dato se elevará a 330 millones o más.(1)(47)

Se estima que en 2010 fallecieron 4,5 millones de personas como consecuencias del exceso de azúcar en la sangre, encontrándose más del 80% de las muertes por esta causa en países subdesarrollados, en donde casi la mitad de esas muertes corresponden a personas de menos de 70 años, y un 55% a mujeres. (13)

Estudios estadísticos del Ecuador como el respaldado por José A. Mesa, médico endocrinólogo, cubano mexicano, ex-secretario General de la Asociación Latinoamericana de Diabetes y actual Coordinador del Grupo Latinoamericano del Estudio del Pie diabético, sugieren que cerca de un tercio de las personas con diabetes mellitus tipo 2 no saben que tienen la enfermedad además la OMS indica que en nuestro país se han registrado 700 mil personas con este mal, de estas el 70% no puede pagar el tratamiento integral y el resto tiene un control a medias;y de dos a tres pacientes sufren complicaciones crónicas 10 años después de diagnosticadas. (46)

Según la Fundación Ecuatoriana de Diabetes, la prevalencia se registra en el 7% de la población ecuatoriana menor a 45 años, pero desde esa edad sube al 20% y, a partir de los 65, llega al 40%, siendo un problema paralelo el que afecte a personas de bajos recursos económicos.(8)(60)



Actualmente, la diabetes es responsable de la prevalencia de enfermedades importantes tales como: retinopatía: 16-21 %, nefropatía: 12-23 %, neuropatía: 25-40 %. De acuerdo con publicaciones científicas de la Organización Panamericana de la Salud, la diabetes es la causa más frecuente de polineuropatía, y alrededor de 50% de las personas con diabetes mellitus presentan alteraciones neuropáticas en los 25 años siguiente al diagnóstico. La diabetes es responsable de poco más de 90% de todas las amputaciones no traumáticas, mientras que la nefropatía diabética se ha convertido en la primera causa de insuficiencia renal terminal y de ceguera en el adulto.(1)(47)

En los últimos años importantes estudios epidemiológicos han demostrado que fumar aumenta el riesgo de presentar diabetes mellitus tipo 2, los estudios también muestran que los fumadores con diabetes tienen mayores niveles de HbA1c que los no fumadores con diabetes; sin embargo, nadie conocía el contenido exacto del humo del tabaco responsable de la elevación del nivel de HbA1c. Liu (California State Polytechnic University en Pomona, California) y sus colegas comprobaron que la nicotina provoca aquello, analizó muestras de sangre humana con diversas concentraciones de nicotina, encontrándose que el consumo de cigarrillos (y de parches o chicles durante temporadas largas) produce un aumento de la glucosa en sangre que posteriormente se ve reflejado en los resultados de la HbA1c de hasta un 34 %; es así que cuanto mayor sea el nivel de nicotina, la HbA1c se produce más.(4)(61)

La OMS estima que durante el siglo XX el tabaco mató a 100 millones de personas siendo la segunda causa de muerte en el mundo. En Ecuador son unas 4 mil muertes anuales, 11 diarias, asociadas al consumo de tabaco, sumado a esto una serie de discapacidades y enfermedades provocadas por la misma causa. Además, miles de personas que nunca han fumado mueren cada año de enfermedades causadas por la exposición al humo del cigarrillo. Así lo demuestra un estudio del programa Atención Primaria SenseFum, del Departamento de Salud de la Generalitat de Cataluña, demostró que, el conocido como "humo de tercera mano", adherido a la piel o a la ropa, es el responsable de niveles elevados de nicotina.(18)(66)

La combinación de nicotina y diabetes, es muy peligrosa, y porque no decirlo, mortal, algunos estudios han llegado a afirmar que cada cigarro que fuma un diabético equivale a seis en una persona sana, es así que se multiplica el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares; además debemos recordar que la diabetes es una enfermedad silenciosa por lo que su detección temprana es clave para la instauración del manejo oportuno y la disminución de las complicaciones a corto, mediano y largo plazo. (19)

Esta investigación tiene como objetivo establecer la influencia que posee la nicotina sobre los valores de hemoglobina glicosilada, mediante el uso de ratones *Mus musculus* cepa BALB/c con hiperglucemia inducida por aloxano; estudio que fue realizado en la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, permitiendo de esta manera comprobar dicha hipótesis.

# **CAPÍTULO I**

## **1. MARCO TEÓRICO**

### **1.1 EL PÁNCREAS**

El páncreas es un órgano aplanado, localizado hacia atrás, ligeramente abajo del estómago, el 98% se clasifica como glándula endocrina y el 2% como glándula exocrina, de manera general consta de una cabeza, un cuello y una cola.(24)

La proporción endocrina del páncreas, consiste en un millón de acúmulos de células que se denominan islotes pancreáticos o islotes de Langerhans. Hay cuatro tipos de células que se encuentran en estos agrupamientos.

1. Célula Alfa: Producen y secretan glucagón.
2. Célula Beta: Producen y secretan insulina.
3. Célula Delta: Producen y secretan somatostatina.
4. Célula PP: Producen y secretan polipéptido pancreático.(15)

#### **1.1.1 HORMONAS PANCREÁTICAS**

##### **1.1.1.1 Glucagón**

Es un péptido de 29 aminoácidos, sintetizado y secretado por las células alfa; tiene efectos antagónicos a la insulina, su principal sitio de acción es en el hígado, estimulando la producción de glucosa a través de la activación de la gluconeogénesis y la glucogenólisis. (3)(24)

El hígado entonces libera la glucosa hacia la sangre y aumenta las concentraciones de azúcar sanguínea, la secreción del glucagón, está directamente controlada por las concentraciones de azúcar en la sangre por medio de un sistema de retroalimentación negativa. Cuando las concentraciones de azúcar en la sangre disminuyen por debajo de los valores normales los elementos sensibles químicamente en las células alfa de los islotes estimulan a la célula para secreten glucagón; cuando la azúcar de la sangre aumenta, las células ya no se estimulan y se suspende la producción, si por alguna razón el instrumento de retroalimentación falla y las células alfa secretan glucagón continuamente, pueden aparecer hiperglucemia. El ejercicio y las comidas (con alto contenido proteico absoluto) aumentan las concentraciones de aminoácidos en la sangre pueden hacer que se provoque un aumento en la secreción de glucagón.(3)(20)

#### **1.1.1.2 Somatostatina**

Es un péptido de 14 aminoácidos, sintetizado y secretado en las células delta, tiene un amplio espectro de acciones inhibidores y se encuentra ampliamente distribuida en tejidos como el hipotálamo, otras áreas del sistema nervioso central, páncreas y aparato digestivo. Inhibe la producción de glucagón, insulina y hormonas de crecimiento.(5)(14)

#### **1.1.1.3 Polipéptido Pancreático**

Formada por 36 aminoácidos, es un péptido neuroendocrino.(14)

#### **1.1.1.4 Insulina**

La insulina (del latín *insula*, "isla") es una hormona polipeptídica formada por 51 aminoácidos, tiene un peso molecular de 5800; esta interviene en el aprovechamiento metabólico de los nutrientes.(37)

## 1. BIOSÍNTESIS

La insulina es producida por las células beta de los islotes pancreáticos, inicialmente se sintetiza como un polipéptido precursor con una única cadena de 86 aminoácidos, la preproinsulina. El procesamiento proteolítico posterior elimina el péptido señalizador aminoterminal, generando la proinsulina, la cual está emparentada de modo estructural con los factores de crecimiento afines a la insulina 1 y 2, que se unen débilmente al receptor de insulina. La escisión de un fragmento interno de la proinsulina de 31 residuos genera el péptido C y las cadenas A (de 21 aminoácidos) y B (30 aminoácidos) de la insulina, unidas entre sí por puentes disulfuro. La molécula de insulina madura y el péptido C se almacenan juntos y se segregan simultáneamente desde los gránulos secretorios de las células beta. (15)(62)

## 2. SECRECIÓN

La glucosa es el regulador esencial de la secreción de insulina por la célula beta pancreática, aunque también ejercen su influencia aminoácidos, cetonas, diversos nutrimentos, péptidos gastrointestinales y neurotransmisores. Las concentraciones de glucosa que pasan de 3.9 mmol/L (70 mg/100 mL) estimulan la síntesis de insulina primordialmente al intensificar la traducción y el procesamiento de la proteína; la glucosa comienza a estimular la secreción de insulina cuando aquella es introducida en la célula beta por el transportador de glucosa GLUT2 (Figura 1). La fosforilación de la glucosa por glucocinasa es el paso limitante de la velocidad que controla la secreción de insulina regulada por glucosa. (53)(62)

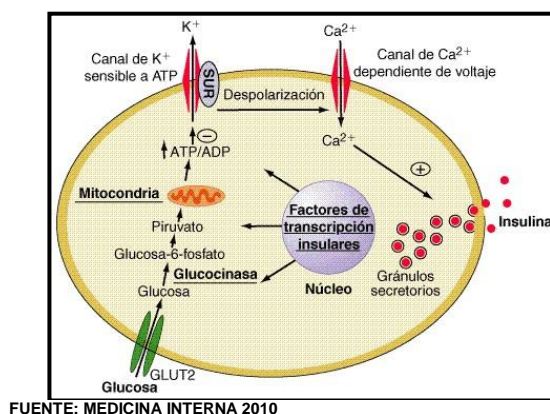


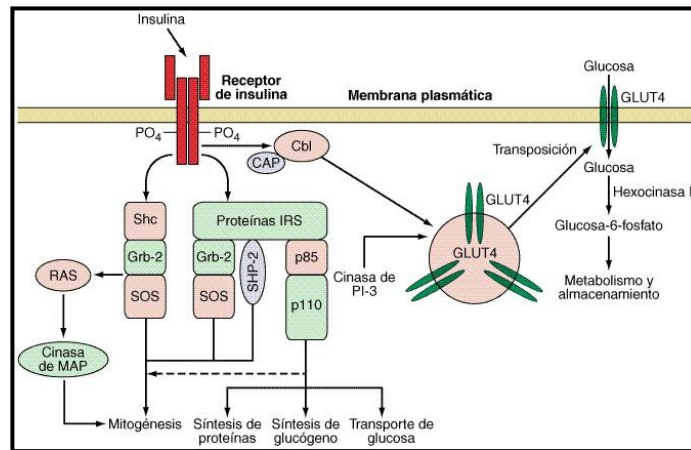
FIGURA No. 1 SECRECIÓN DE INSULINA

El metabolismo ulterior de la glucosa 6-fosfato por la vía de la glucólisis genera trifosfato de adenosina (*adenosinetriphosphate*, ATP), que inhibe la actividad de un canal de  $K^+$  sensible a ATP; este canal consiste en dos proteínas separadas: una es el receptor de ciertos hipoglucemiantes orales (por ejemplo: sulfonilureas, meglitinidas), y el otro es una proteína de canal de  $K^+$  rectificadora hacia el interior. La inhibición de este canal de  $K^+$  induce la despolarización de la membrana de la célula beta, lo que abre canales de calcio dependientes de voltaje (con entrada consecuente de calcio en la célula) y estimula la secreción de insulina; las características de la secreción de insulina revelan un patrón pulsátil de descarga de la hormona, con ráfagas secretorias pequeñas aproximadamente cada 10 min superpuestas a oscilaciones de mayor amplitud de 80 a 150 min. Las células neuroendocrinas de las vías gastrointestinales después de la ingestión de alimentos liberan incretinas, y amplifican la secreción de insulina estimulada por glucosa y suprimen la de glucagón. El péptico glucagonoide 1 (*glucagon-like peptide 1*, *GLP-1*), que es la incretina más potente, es liberado de la célula L en el intestino delgado y estimula la secreción de insulina solamente cuando la glucemia rebasa el nivel de ayuno. (54)

### 3. ACCIÓN

Una vez que se secreta la insulina hacia la sangre venosa portal, casi 50% de ella se degrada en el hígado, la insulina que no extrae el hígado llega a la circulación general, donde se fija en receptores de sus sitios diana, la insulina que se fija a su receptor estimula la actividad intrínseca de tirosinasa, lo que da por resultado autofosforilación del receptor y reclutamiento de moléculas de señalización intracelulares, como los sustratos del receptor de insulina (*insulin receptor substrates*, IRS) (Figura 2). Estas proteínas adaptadoras y otras inician una cascada compleja de reacciones de fosforilación y desfosforilación, que en último término provocan los amplios efectos metabólicos y mitógenos de la insulina; por ejemplo, la activación de la vía de la cinasa de fosfatidilinositol 3' (*phosphatidylinositol-3'*, *PI-3*) estimula la transposición de los transportadores de glucosa (por ejemplo: GLUT4) a la superficie celular, un suceso crucial para la captación de glucosa por el músculo y el tejido adiposo. La activación de otras vías de señalización del receptor de insulina induce la síntesis de glucógeno, la

síntesis de proteínas, la lipogénesis y la regulación de diversos genes en células que reaccionan a la insulina.(55)(62)



FUENTE: MEDICINA INTERNA 2010.

**FIGURA No. 2 VÍAS DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES DE LA INSULINA EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO**

La homeostasis de la glucosa refleja un equilibrio preciso entre la producción hepática de glucosa y la captación y utilización periféricas de este sustrato. La insulina es el regulador más importante de este equilibrio metabólico, pero los efectos de otras vías, como aferencias nerviosas, señales metabólicas y hormonas (por ejemplo: el glucagón) generan un control integrado del aporte y la utilización de glucosa. En el estado de ayuno, los niveles bajos de insulina intensifican la producción de glucosa al promover la gluconeogénesis y la glucogenólisis en el hígado y disminuir la captación de glucosa por parte de tejidos insulinosensibles (músculo de fibra estriada), con lo cual se estimula la movilización de precursores almacenados, como aminoácidos y ácidos grasos libres. (12)(55)

El glucagón estimula también la glucogenólisis y la gluconeogénesis por el hígado y la médula renal; las concentraciones bajas de insulina disminuyen la síntesis de glucógeno, reducen la captación de glucosa en los tejidos sensibles a insulina y promueven la movilización de los precursores almacenados. En el período posprandial la carga de glucosa incrementa la concentración de insulina y disminuye la de glucagón, lo que tiene como consecuencia inversión de estos procesos; la mayor parte de la glucosa posprandial es utilizada por el músculo esquelético, efecto que se debe a la captación de glucosa

estimulada por insulina. Otros tejidos, principalmente el cerebral, utilizan la glucosa de una manera independiente de la insulina. (13)(56)

## **1.2 DIABETES MELLITUS (DM)**

La Diabetes Mellitus es un desorden metabólico de etiología múltiple caracterizado por hiperglicemia crónica con cambios en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y las proteínas, resultado de un defecto de la secreción y/o la acción de la insulina, que contribuye al desarrollo de complicaciones macrovasculares, microvasculares y neuropatías. (34)

Los nuevos criterios para el diagnóstico y clasificación de esta patología fueron desarrollados casi simultáneamente por un comité de expertos de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y por un comité asesor de la Organización Mundial de la Salud (OMS), esta se basa fundamentalmente en su etiología y características fisiopatológicas, pero adicionalmente incluye la posibilidad de describir la etapa de su historia natural en la cual se encuentra la persona. (50)

### **1.2.1 CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA DE LA DIABETES MELLITUS**

La clasificación de la diabetes mellitus contempla cuatro grupos:

- Diabetes tipo 1 (DM1).
- Diabetes tipo 2 (DM2).
- Otros tipos específicos de diabetes.
- Diabetes gestacional (DMG).(21)(41)

A pesar que exista varios tipos de diabetes, el 90% de la población enferma se puede encuadrar en los dos primeros grupos, con frecuencia las personas con DM2 llegan a requerir insulina en alguna etapa de su vida y, por otro lado, algunos DM1 pueden progresar lentamente o tener períodos largos de remisión sin requerir la terapia insulínica. Por ello se eliminaron los términos no insulino e insulino dependientes para referirse a estos dos tipos de diabetes.(6)(33)



### **1.2.1.1 Diabetes Mellitus Tipo 1**

En la DM1 las células beta se destruyen, lo que conduce a la deficiencia absoluta de insulina, sus primeras manifestaciones clínicas suelen ocurrir alrededor de la pubertad, cuando ya la función se ha perdido en alto grado y la insulino terapia es necesaria para que el paciente sobreviva. (7)(13)

Sin embargo, existe una forma de presentación de lenta progresión que inicialmente puede no requerir insulina y tiende a manifestarse en etapas tempranas de la vida adulta, a este grupo pertenecen aquellos casos denominados por algunos como diabetes autoinmune latente del adulto (LADA).(8)(10)

Recientemente se ha reportado una forma de diabetes tipo 1 que requiere insulina en forma transitoria y no está mediada por autoinmunidad, la etiología de la destrucción de las células beta es generalmente autoinmune pero existen casos de DM1 de origen idiopático, donde la medición de los anticuerpos conocidos da resultados negativos, por lo tanto, cuando es posible medir anticuerpos tales como anti-GAD65, anticélulas de islotes (ICA), antitirosina fosfatasa (IA-2) y antiinsulina; su detección permite subdividir la DM1 en:

1. Autoinmune
2. Idiopática(50)

### **1.2.1.2 Diabetes Mellitus Tipo 2**

La DM2 se presenta en personas con grados variables de resistencia a la insulina pero se requiere también que exista una deficiencia en la producción de insulina que puede o no ser predominante, ambos fenómenos deben estar presentes en algún momento para que se eleve la glucemia. Aunque no existen marcadores clínicos que indiquen con precisión cuál de los dos defectos primarios predomina en cada paciente, el exceso de peso sugiere la presencia de resistencia a la insulina mientras que la pérdida de peso sugiere una reducción progresiva en la producción de la hormona; a pesar de que este tipo de diabetes se presenta principalmente en el adulto, su frecuencia está aumentada en niños y adolescentes obesos.(11)

Desde el punto de vista fisiopatológico, la DM2 se puede subdividir en:

1. Predominantemente insulinoresistente con deficiencia relativa de insulina
2. Predominantemente con un defecto secretor de la insulina con o sin resistencia a la insulina(16)(27)

### 1.2.1.3 Otros tipos específicos de diabetes

El tercer grupo lo conforma un número considerable de patologías específicas que se indican a continuación:

**TABLA No 1. OTROS TIPOS ESPECÍFICOS DE DIABETES MELLITUS**

TIPOS	ESPECIFICACIÓN
Defectos genéticos de la función de la célula beta	Defectos del cromosoma 20, HNF-4alfa (antes MODY 1), del cromosoma 7, glucoquinasa (antes MODY 2), del cromosoma 12, HNF-1alfa (antes MODY 3), del DNA mitocondrial y otros.
Defectos genéticos en la acción de la insulina	Resistencia a la insulina tipo A, leprechaunismo, síndrome de Rabson-Mendenhall, diabetes lipoatrófica y otros.
Enfermedades del páncreas exocrino	Pancreatitis, trauma del páncreas, pancreatomectomía, neoplasia del páncreas, fibrosis quística, hemocromatosis, pancreatopatía fibrocalculosa y otros.
Endocrinopatías	Acromegalia, síndrome de Cushing, glucagonoma, feocromocitoma, hipertiroidismo, somatostatina, aldosteronoma y otros
Inducida por drogas o químicos	Vacor, pentamidina, ácido nicotínico, glucocorticoides, hormonas tiroideas, diazóxido, agonistas betaadrenérgicos, tiazidas, fenitoína, alfa-interferón y otros
Infecciones	Rubéola congénita, citomegalovirus y otros
Formas poco comunes de diabetes mediada inmunológicamente	Síndrome del "hombre rígido" ("stiff-man syndrome"), anticuerpos contra el receptor de la insulina y otros
Otros síndromes genéticos algunas veces asociados con diabetes	Síndrome de Down, síndrome de Klinefelter, síndrome de Turner, síndrome de Wolfram, ataxia de Friedreich, corea de Huntington, síndrome de Lawrence Moon Beidel, distrofia miotónica, porfiria, síndrome de Prader-Willi y otros. (16)

FUENTE: GUÍAS ALAD 2009.

#### **1.2.1.4 Diabetes Mellitus Gestacional**

Es una alteración del metabolismo de los hidratos de carbono, de severidad variable, que se inicia o se reconoce por primera vez durante el embarazo. Se aplica independientemente de si se requiere o no insulina, o si la alteración persiste después del embarazo y no excluye la posibilidad de que la alteración metabólica haya estado presente antes de la gestación.(22)

#### **1.2.2 ETAPAS DE LA DIABETES MELLITUS**

La diabetes se entiende como un proceso de etiologías variadas que comparten manifestaciones clínicas comunes; la posibilidad de identificar la etapa en la que se encuentra la persona con esta enfermedad facilita las estrategias de manejo.(23)

Estas etapas son:

##### **1.2.2.1 Normogluemia**

Cuando los niveles de glucemia son normales pero los procesos fisiopatológicos que conducen a DM ya han comenzado e inclusive pueden ser reconocidos en algunos casos. Incluye aquellas personas con alteración potencial o previa de la tolerancia a la glucosa.(17)(50)

##### **1.2.2.2 Hipergluemia**

Cuando los niveles de glucemia superan el límite normal. Esta etapa se subdivide en:

1. Regulación alterada de la glucosa
  2. Diabetes mellitus, que a su vez se subdivide en:
    - a. DM no insulino-requiriente
    - b. DM insulino-requiriente para lograr control metabólico
    - c. DM insulino-requiriente para sobrevivir (verdadera DM insulino-dependiente).
- (35)(40)

Una vez identificada la etapa, la persona puede o no progresar a la siguiente o aun retroceder a la anterior, por el momento no se dispone de marcadores específicos y sensibles para detectar la DM2 y la DMG en la etapa de normoglucemia. La detección de DM1 en esta etapa se basa en la combinación de análisis genéticos e inmunológicos que todavía se restringen al nivel de investigación clínica, las etapas que le siguen se refieren al estado de hiperglucemia que se define con base en los criterios diagnósticos de DM. La distinción del paciente no insulino-requiriente, insulino-requiriente para control, insulino-requiriente para sobrevivir se basa en la apreciación clínica, aunque existen algunos indicadores de falla de la célula beta como la falta de respuesta del péptido de conexión (péptido C) a diferentes estímulos.(40)(64)

### 1.2.3 DIAGNÓSTICO LA DIABETES MELLITUS

Para el diagnóstico de la DM se puede utilizar cualquiera de los siguientes criterios:

#### 1.2.3.1 Síntomas de diabetes

1. Los síntomas más frecuentes incluyen:

- Poliuria, polidipsia y polifagia.
- Pérdida de peso a pesar de la polifagia.
- Fatiga o cansancio.
- Cambios en la agudeza visual.(26)

2. En cambio los signos y síntomas menos frecuentes son:

- Vaginitis en mujeres, balanitis en hombres.
- Aparición de glucosa en la orina u orina con sabor dulce.
- Ausencia de la menstruación en mujeres.
- Aparición de impotencia en los hombres.
- Dolor abdominal.
- Hormigueo o adormecimiento de manos y pies, piel seca, úlceras o heridas que cicatrizan lentamente.
- Debilidad.

- Irritabilidad.
- Cambios de ánimo.
- Náuseas y vómitos.
- Mal aliento(26)(31)

### **1.2.3.2 Medición de Glucemias**

#### **1.EN AYUNAS**

La glucemia medida en plasma venoso que sea igual o mayor a 126 mg/dL (7 mmol/l).  
(21)

#### **2. PRUEBA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA (PTOG)**

Glucemia medida en plasma venoso que sea igual o mayor a 200 mg/dL (11.1 mmol/l) dos horas después de una carga de glucosa durante una prueba de tolerancia oral a la glucosa.

Este prueba consiste en la medición de la glucemia dos horas después de dar una carga oral de 75 gramos de glucosa; las mediciones intermedias durante la PTOG no se recomiendan en forma rutinaria. Por este motivo se eliminó el término "curva de tolerancia a la glucosa".(5)(38)

#### **A. CONDICIONES**

Para la realización de la PTOG la persona debe ingerir 75 gramos de glucosa diluidos en 300 mL de agua con o sin sabor, a temperatura ambiente, en un período no mayor de cinco minutos. Además debe reunir las siguientes condiciones:

- Ayuno de ocho a 14 horas (se puede tomar agua)
- Evitar restricciones en la dieta durante los tres días precedentes (consumo mínimo de 150 gramos de hidratos de carbono al día). La evidencia reciente sugiere que es conveniente consumir la noche anterior una comida con un contenido razonable de carbohidratos (30-50 g)
- Evitar cambios en la actividad física habitual durante los tres días precedentes
- Durante la prueba debe mantenerse en reposo y sin fumar

- Es preferible que no tenga una infección u otra enfermedad intercurrente. De lo contrario, debe quedar consignada en el informe de la prueba
- Debe interrumpir el consumo de medicamentos que pudieran alterar los valores de la glucemia mínimo 12 horas previas a la realización de la prueba. De lo contrario, deben quedar consignados en el informe de la prueba
- La PTOG no se debe practicar en pacientes con VIH positivo que estén recibiendo inhibidores de proteasas por el alto número de resultados de glucemia falsamente positivos.

Nota: En niños la PTOG rara vez se utiliza, pero cuando se requiere la carga de glucosa se calcula con base en 1.75 g por kg de peso sin exceder 75 g en total.

**TABLA No 2. CRITERIOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE DM, UTILIZANDO DIFERENTES MUESTRAS DE SANGRE Y DIFERENTES UNIDADES DE MEDIDA**

DIAGNÓSTICO DIABETES MELLITUS	GLUCEMIA AYUNAS		GLUCEMIA EN PTOG	
	mg/dL	mmol/L	mg/dL	mmol/L
Plasma o suero venoso	≥ 126	≥ 7	≥ 200	≥ 11,1
Sangre total venosa	≥ 110	≥ 6,1	≥ 180	≥ 10
Plasma capilar	≥ 126	≥ 7	≥ 220	≥ 12,2
Sangre total capilar	≥ 110	≥ 6,1	≥ 200	≥ 11,1

FUENTE: AMERICAN ASSOCIATION - DIABETES E INSULINA 2011.

## **B.HIPERGLUCEMIA INTERMEDIA**

El término prediabetes se ha revivido para catalogar a las personas que no reúnen los criterios para el diagnóstico de diabetes pero cuyos resultados no son normales en las pruebas diagnósticas. Estas personas tienen un riesgo alto de desarrollar diabetes y también se encuentran en un riesgo mayor de tener un evento cardiovascular cuando se comparan con las personas que tienen la glucemia normal, especialmente si tienen también otros componentes del síndrome metabólico. Algunos expertos en este tema prefieren el término "disglucemia" o inclusive el más descriptivo de "alteración en la regulación de la glucosa".(39)(41)

La condición pre-diabética más reconocida es la intolerancia a la glucosa (ITG) que se diagnostica mediante una PTOG. Las personas con ITG tienen un riesgo alto de desarrollar diabetes cuya magnitud depende de las características étnicas y ambientales de la población, este riesgo se puede reducir hasta en un 50% con intervenciones dirigidas a cambiar el estilo de vida y hasta un 62% con medicamentos, por lo cual ha cobrado importancia la identificación de estos individuos para involucrarlos en programas de prevención primaria de diabetes.(32)

Actualmente también se reconoce la glucemia de ayuno alterada (GAA) como otra condición prediabética, para algunas asociaciones como la ADA, los nuevos criterios para diagnosticar GAA tienen la sensibilidad y la especificidad suficientes para incluir también a las personas con ITG, por lo que se hace innecesario practicar una PTOG; sin embargo, la OMS y la IDF recomiendan que a toda persona con GAA se le practique una PTOG para establecer si ya tiene ITG o inclusive diabetes. Esto se basa en que las personas con ITG probablemente se encuentran en una etapa más avanzada de prediabetes, tienen mayor riesgo cardiovascular (la glucemia post-carga de glucosa es un mejor predictor del riesgo cardiovascular en estados pre-diabéticos) y constituyen un grupo en el que se puede prevenir retardar la aparición de diabetes con base en la evidencia de ensayos clínicos aleatorizados. Todavía no está claro si esto se puede extrapolar a las personas con GAA. La presencia de GAA e ITG confieren a la persona un riesgo todavía mayor de desarrollar diabetes.(12)(63)

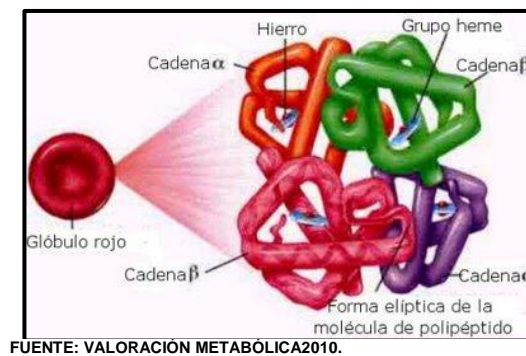
La GAA, la ITG y la diabetes forman parte del síndrome metabólico y la presencia de diabetes incrementa significativamente el riesgo cardiovascular de éstos individuos. A la inversa, la presencia del síndrome metabólico en personas con diabetes también aumenta significativamente su riesgo cardiovascular.(45)

#### 1.2.4 CONTROL CLÍNICO Y METABÓLICO DE LA DIABETES TIPO 2

El control de la diabetes elimina los síntomas, evita las complicaciones agudas y disminuye la incidencia y progresión de las complicaciones crónicas microvasculares, al combinarlo con el control de otros problemas asociados como la hipertensión arterial y la dislipidemia, también previene las complicaciones macrovasculares.(36)

Para lograr un buen control de la DM2 se deben alcanzar metas establecidas para cada uno de los parámetros que contribuyen a establecer el riesgo de desarrollar complicaciones crónicas como la glucemia y la hemoglobina glucosilada, los lípidos, la presión arterial y las medidas antropométricas relacionadas con la adiposidad. Se debe tener en cuenta que para la mayoría de estos parámetros no existe un umbral por debajo del cual se pueda asegurar que la persona con diabetes nunca llegará a desarrollar complicaciones. (41)(44)

### 1.2.5 HEMOGLOBINA GLUCOSILADA(HbA1c)



**FIGURA No. 3 ESTRUCTURA DE LA HEMOGLOBINA**

La hemoglobina de los seres humanos está compuesta por tres variedades de hemoglobina llamadas: hemoglobina A, hemoglobina A2 y hemoglobina F. La hemoglobina A es la más abundante representa aproximadamente el 97%; dentro de esta misma fracción hay varios grupos, también conocidos como fracciones menores (HbA1a, HbA1b y HbA1c), las cuales se diferencian entre sí de acuerdo con la velocidad de movimiento durante el proceso de electroforesis.(51)

Existe una relación directa entre la HbA1c y el promedio de glucosa sérica porque la glucosilación de la hemoglobina es un proceso relativamente lento, no enzimático, que ocurre durante los 120 días de vida media del eritrocito; esto explica que se piense que la HbA1c representa un promedio de la glucemia en las últimas 6 a 8 semanas. Los resultados descritos por Fitzgibbon en 1976 mostraron que las concentraciones de HbA1c se incrementan conforme el eritrocito envejece; en los pacientes diabéticos el incremento es significativamente mayor, en comparación con pacientes sanos.(17)(51)



Este examen sencillo ofrece un resultado muy valioso en cuanto al control del paciente con diabetes, su principio básico es el siguiente: la hemoglobina es una proteína que se encuentra dentro de los glóbulos rojos de la sangre y de lo que se ocupa es del transporte de oxígeno, el cual lo toma a nivel pulmonar y por esta vía la lleva a todas las células del organismo. Pero esta afinidad no es precisamente nada más con el oxígeno, la glucosa se une también a ella sin la acción de insulina.(39)

La misma fisiopatología de la diabetes nos indica que la glucosa se encontrará en niveles muy elevados en sangre, por la deficiencia de insulina o por la incapacidad de esta para poderla llevar a las células (resistencia a la insulina), esa glucosa en exceso entra a los glóbulos rojos y se une con moléculas de hemoglobina, glucosilándola, en sentido de proporción, a mayor glucosa, mayor hemoglobina glucosilada. (45)

Se han colocado como niveles "adecuados" aquellos con los cuales se ha logrado demostrar reducción significativa del riesgo de complicaciones crónicas y por lo tanto se consideran de bajo riesgo. Niveles "inadecuados" son aquellos por encima de los cuales el riesgo de complicaciones es alto.(50)

Se podría suponer que si una persona logra reducir sus glucemias por debajo de los niveles diagnósticos de DM, cesaría el riesgo de microangiopatía y si las logra colocar por debajo del nivel diagnóstico de ITG se reduciría significativamente el riesgo de eventos cardiovasculares.(52)

Estudios como el UKPDS y el DCCT mostraron que la relación entre la hemoglobina glucosilada estable (A1c) y el riesgo de complicaciones es lineal, sin que se pueda identificar un nivel donde el riesgo desaparezca. Por ahora los valores "normales" siguen siendo la meta óptima, a pesar de que no se han podido mantener en ningún estudio hasta el momento. En la Tabla 2 se describen las metas actuales para el control de la glucemia y la A1c.(13)(47)

**TABLA No 3. METAS PARA EL CONTROL DE LOS PARÁMETROS GLUCÉMICOS.**

<b>Nivel</b>	<b>Normal</b>	<b>Adecuado</b>	<b>Inadecuado</b>
Riesgo complicaciones crónicas		BAJO	ALTO
Glucemia ayunas (mg/dL)	< 100	70 – 120	≥ 120
Glucemia 2 horas postprandial	< 140	70 – 140	≥ 140
Hemoglobina glicosilada (%)	< 6	< 6,5	≥ 7

FUENTE: AMERICAN ASSOCIATION - DIABETES E INSULINA 2011.

La frecuencia con la que debe medirse la HbA1c es cada tres o cuatro meses, especialmente si no está bien controlada, en pacientes con una diabetes estable debe medirse al menos dos veces al año. Un amplio estudio denominado DDCT demostró que buenos resultados en la HbA1c durante años reducen o incluso eliminan la aparición de complicaciones tradicionalmente asociadas a la diabetes: insuficiencia renal crónica, retinopatía diabética, neuropatía periférica, etc.(50)(59)

### **1.2.6 MÉTODOS PARA EVALUAR EL CONTROL DE LA GLUCEMIA**

Los mejores métodos son:

#### **1.2.6.1 Automonitoreo**

El automonitoreo en sangre capilar utilizando tirillas reactivas y un glucómetro para su lectura es el método ideal, su resultado se suele identificar como "glucometría" para diferenciarlos de la glucemia medida en el laboratorio; además se recomienda hacer glucometrías diarias y a diferentes horas (pre y/o postprandiales) según criterio médico; este método es especialmente útil para conocer el comportamiento de la glucemia en los períodos postprandiales y en las horas de la tarde y la noche, cuando el paciente no tiene acceso fácil al laboratorio. Sin embargo, su costo y necesidad de educación y entrenamiento pueden volverlo difícil de aplicar en algunos lugares.(36)(41)

Se debe motivar a toda persona con DM2 para que utilice el automonitoreo regularmente, especialmente y de manera indispensable en las personas con DM2 embarazadas y/o que están utilizando insulina, la frecuencia depende de la intensidad de la insulino terapia. (41)

En las personas que están en tratamiento con antidiabéticos orales, la frecuencia depende de la estabilidad e intensidad del manejo. Se recomienda mínimo una vez a la semana y se debe intensificar cuando:

- Se inicia un nuevo tratamiento
- Se cambia la medicación o la dosis
- La A1c se encuentra por fuera de la meta
- Se presenta una enfermedad intercurrente
- Se presentan hipoglucemias frecuentes y/o sin aviso(37)(63)

#### **1.2.6.2 Monitoreo en el laboratorio**

Toda persona con DM2 que no pueda practicar el automonitoreo debería medirse la glucemia una vez por semana o al menos una vez por mes, se puede requerir una frecuencia mayor si no se logra un control adecuado, lo cual puede ser un motivo para recurrir al automonitoreo.(42)

#### **1.2.6.3 Monitoreo ambulatorio continuo**

Es una forma de conocer las variaciones de la glucemia durante 24 horas y hasta por 3 días, mediante la colocación de un sensor que mide la glucosa en el líquido intersticial y la convierte en valores equivalentes de glucemia, el equipo necesario para poder efectuar la medición y el almacenamiento de los datos tiene un costo alto, por lo cual su utilización es limitada. Puede ser especialmente útil en personas con diabetes lábil, con insulino terapia intensiva de difícil ajuste y/o con hipoglucemias frecuentes y asintomáticas.(38)(44)

#### **1.2.7 TRATAMIENTO EDUCACIÓN E INTERVENCIONES ORIENTADAS AL ESTILO DE VIDA**

Los principales factores ambientales que incrementan el riesgo de diabetes son la nutrición excesiva, una forma de vida sedentaria, con el consiguiente sobrepeso y obesidad, además la dislipidemia, la hipertensión arterial y el tabaquismo, por lo que toda esta educación debe hacer énfasis en la importancia de controlar estos factores de riesgo.(29)(50)

#### **1.2.7.1 Intervenciones orientadas al estilo de vida**

La DM compromete todos los aspectos de la vida diaria de la persona que la padece, por consiguiente, el proceso educativo es parte fundamental del tratamiento del paciente diabético. Este facilita alcanzar los objetivos de control metabólico, que incluyen la prevención de las complicaciones a largo plazo, y permite detectar la presencia de la enfermedad en el núcleo familiar o en la población en riesgo. Gracias al proceso educativo, la persona con DM se involucra activamente en su tratamiento y puede definir los objetivos y medios para lograrlos de común acuerdo con el equipo de salud.

Los propósitos básicos son:

- Lograr un buen control metabólico.
- Prevenir complicaciones.
- Cambiar la actitud del paciente hacia su enfermedad.
- Mantener o mejorar la calidad de vida.
- Asegurar la adherencia al tratamiento.
- Lograr la mejor eficiencia en el tratamiento teniendo en cuenta costo-efectividad, costo-beneficio y reducción de costos.
- Evitar la enfermedad en el núcleo familiar.(1)(41)

#### **1.2.7.2 Dieta y ejercicio físico**

Mantener una dieta sana es una de las mejores maneras que se puede tratar la diabetes, ya que no hay ningún tratamiento que elimine esta enfermedad, en cuanto la persona sea diagnosticada con diabetes debe empezar a mantener una dieta equilibrada, cuidando la cantidad de gramos de carbohidratos que come durante el día, adaptándola a las necesidades de su organismo y evitando los alimentos con índice glucémico alto. (41)

El ejercicio es otra cosa muy importante en el tratamiento de la diabetes, una pérdida de peso mínima, incluso de 4 kg, con frecuencia mejora la hiperglucemia; en la prevención de la enfermedad, una pérdida similar reduce hasta en un 60% el riesgo.(41)(60)

Es indispensable que toda persona con diabetes evite o suprima el hábito de fumar, el riesgo de desarrollar complicaciones macrovasculares aumenta significativamente y es aun superior al de la hiperglucemia.(50)

## 1.2.8 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

En la diabetes tipo 1 y en la diabetes gestacional se aplica un tratamiento sustitutivo de insulina o análogos de la insulina, en cambio que, en la diabetes tipo 2 puede aplicarse un tratamiento con antidiabéticos orales.(44)

El tratamiento farmacológico se debe iniciar en toda persona con diabetes tipo 2 que no haya alcanzado las metas de buen control glucémico con los cambios terapéuticos en el estilo de vida; para seleccionar un antidiabético oral (ADO) deben tenerse en cuenta las características del medicamento: mecanismo de acción, efectividad, potencia, efectos secundarios, contraindicaciones y costo; además se debe tomar en cuenta sus condiciones clínicas como es el nivel de la glucemia, el grado de sobrepeso, el grado de descompensación de la diabetes, la presencia de comorbilidades, y la presencia de factores que puedan contraindicar algún fármaco en particular. (42)(44)

Se considera que una persona tiene sobrepeso clínicamente significativo a partir de un IMC mayor de  $27\text{kg/m}^2$ , por debajo de ese nivel se considera un peso cercano al normal. Una persona se encuentra clínicamente inestable si presenta sintomatología severa derivada de la hiperglucemia y/o hay evidenciade cetosis, deshidratación, compromiso hemodinámico.(13)(63)

La metformina es la única biguanida disponible y se debe considerar como el ADO de primera línea en todas las personas con diabetes tipo 2 y en particular en las que tienen sobrepeso clínicamente significativo ( $\text{IMC} \geq 27\text{ kg/m}^2$ ), aumentan la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina, actuando como normoglicemiante.(42)

Las sulfonilureas se pueden considerar como ADO de primera línea en personas con peso normal o que tengan contraindicación a la metformina, como la clorpropamida y glibenclamida, reducen la glucemia intensificando la secreción de insulina.(42)(50)

Las meglitinidas se pueden considerar como alternativa a las sulfonilureas cuando el riesgo de hipoglucemia puede empeorar comorbilidades, aunque el costo es mayor, como la repaglinida y nateglinida, estimulan la secreción de insulina.(1)(40)

Las tiazolidinedionas se pueden considerar como alternativa a la metformina en personas con sobrepeso, aunque puede haber un incremento moderado del mismo y el costo es mayor, así como la pioglitazona, la cual incrementa la sensibilidad del músculo, la grasa y el hígado a la insulina.(64)

La acarbosa es el inhibidor de las alfa glucosidasas de mayor disponibilidad, su efectividad para reducir la hiperglucemia es inferior a la de los demás ADOs por lo cual solo se debe considerar como monoterapia en pacientes con elevaciones leves de la glucemia, especialmente post-prandial ya que reducen el índice de digestión de los polisacáridos en el intestino delgado proximal.(3)(41)

Las gliptinas (inhibidores de la enzima DPP4) se pueden considerar como alternativa de la metformina en personas que tengan intolerancia o contraindicaciones para el uso de esta biguanida. Su experiencia clínica es todavía limitada, intensifican los efectos de GLP-1.(44)(63)

El cambio de monoterapia a terapia combinada debe hacerse en forma oportuna, cuando no se alcanza la meta de control metabólico preestablecida con la dosis media de un solo fármaco en un plazo de 2 a 3 meses; la combinación de ADOs usualmente es más efectiva y produce menos riesgo de efectos secundarios que tratar de llegar a las dosis máximas del medicamento inicial. A continuación se expone una tabla donde se describe las principales combinaciones que han demostrado ser efectivas y seguras.(13)(50)

**TABLA No 4. COMBINACIONES DE ADO QUE HAN PROBADO SER EFECTIVAS EN EL MANEJO DE PERSONAS CON DM2**

COMBINACIONES	
Metformina	Sulfonilurea
Metformina	Tiazolidinediona
Metformina	Acarbosa
Metformina	Metiglinida
Sulfonilurea	Acarbosa
Sulfonilurea	Tiazolidinediona
Meglitinida	Tiazolidinediona

FUENTE: GUÍAS ALAD 2009.

### **1.2.8.1 Insulinoterapia**

La insulina es el medicamento más efectivo para reducir la glucemia aunque presenta hipoglucemia como complicación frecuente; toda persona con DM requiere insulinoterapia intensiva administrada inicialmente en infusión endovenosa cuando presenta un estado de descompensación aguda severa como cetoacidosis o hiperosmolar hiperglucémico no cetósico (EHHNC). (37)(50)

La única forma de adecuar la dosis de insulina para controlar efectivamente las glucemias es mediante el automonitoreo, existen múltiples variables que pueden afectar la respuesta de la insulina a las circunstancias de la vida cotidiana, por lo cual se requieren ajustes frecuentes de la dosis, es necesario capacitar al paciente para que pueda tomar decisiones respecto a las dosis de insulina y a la forma de calcular el contenido calórico de los alimentos mediante el conteo de carbohidratos.(31)

## **1.TIPOS**

La insulina suele tener presentaciones que varían en base al tiempo de duración de sus efectos para controlar los aumentos de azúcar en la sangre que pueden ocurrir después de las comidas y durante el resto del día. Así:

### **a. INSULINAS DE ACCIÓN RÁPIDA**

Las insulinas de acción rápida son análogos de la insulina, tales como la insulina aspartato, glulisina o lispro (Humalog) creados por ADN recombinante, estas comienzan a actuar entre 5 y 15 minutos después de su inyección y permanecen activas entre 3 y 4 horas; los análogos de la insulina no forman grumos en el sitio de inyección y sus efectos son similares a los de la insulina endógena del páncreas en respuesta a la ingesta de alimentos.(45)

La insulina humana regular o *humulin* actúa de manera muy similar a la insulina humana, con un solo pico de concentración máxima, aunque no es un pico simétrico como en el caso de los análogos sintéticos de acción rápida. Ésta insulina comienza su acción a los 30 minutos de la inyección y permanece activa entre 5 y 8 horas.(17)(45)

### **b. INSULINAS DE ACCIÓN INTERMEDIA**

En el caso de la insulina NPH, comienza a actuar entre 1 y 3 horas después de su administración y permanece activa entre 16 y 24 horas. En estas variantes, la duración de la acción de la insulina se prolonga añadiendo una proteína básica, la protamina. De allí el nombre de NPH: *Neutral Protamine Hagedorn* (Hagedorn siendo el apellido de su descubridor).(17)(50)

### **c. INSULINAS DE ACCIÓN PROLONGADA**

Las insulinas de acción prolongada comienzan a actuar entre 4 y 6 horas posterior a su administración y permanecen activas hasta más de 32 horas. La insulina glargina y determinaron análogos sintéticos de la insulina humana y comienzan a actuar entre 1 y 2 horas después de la inyección y permanecen activas sin picos ni bajones por 24 y 22 horas respectivamente.(37)(53)



#### **d. INSULINAS MEZCLADAS**

No se suelen mezclar los análogos de la insulina. Si se mezcla la NPH humana y la insulina regular de acción rápida, ésta comenzará a actuar en los primeros 30 minutos y permanecerá activa entre 16 y 24 horas. Existen varios preparados con diferentes proporciones en las mezclas respectivas, entre ellas, lahumulin 50/50 y 70/30, Mextard 70/30 y Novolin 70/30. (50)

#### **1.2.9COMPLICACIONES DE LA DIABETES MELLITUS**

##### **1.2.9.1 Complicaciones agudas severas de ladiabetes mellitus**

Las complicaciones agudas son las descompensaciones metabólicas hiperglicémicas graves (Cetoacidosis y el Síndrome Hiperosmolar no Cetoacidótico) y la hipoglucemia, los dos primeros derivan de un déficit absoluto o relativo de insulina y las hipoglicemias por un exceso de insulina; es preciso destacar que los efectos metabólicos de un déficit de acción de la insulina, no sólo dependen de su menor actividad biológica, sino también de una desregulación con aumento de las hormonas catabólicas (catecolaminas, glucagón, corticoides, hormona de crecimiento). En estas situaciones los trastornos metabólicos comprometen no sólo el metabolismo de la glucosa, sino también el de los otros sustratos.(46)

#### **1. HIPOGLUCEMIA**

Es un síndrome causado por una reducción crítica del aporte de glucosa al encéfalo y caracterizado por alteración de conciencia y/o signología focal neurológica, esta complicación es muy frecuente en personas con DM2 debido a un control estricto de la glucemia, sobre todo en los que reciben sulfonilureas o se aplican insulina; el aumento en la frecuente puede indicar el comienzo o empeoramiento de una falla renal que tiende a prolongar la vida media de la insulina circulante.El encéfalo requiere de un flujo constante y suficiente de oxígeno y de glucosa para su funcionamiento normal; comparativamente, la utilización de glucosa es alta en relación a otros tejidos,en

condiciones normales el cerebro no puede usar otros sustratos como fuente energética por lo cual depende en forma estricta de la concentración de la glucosa sanguínea. (56)(63)

Bajo 50 mg/dL el cerebro sufre un deterioro funcional y eventualmente, un daño estructural, el compromiso anatómico funcional está en relación con la velocidad de consumo de glucosa en las distintas estructuras. Las áreas que se comprometen en forma inicial son los hemisferios cerebrales, especialmente la corteza y parte del cerebelo, que tienen un alto nivel de consumo. (63)

Hay situaciones que aumentan el riesgo de hipoglucemia en la persona con DM:

- Retrasar u omitir una comida
- Beber alcohol en exceso o sin ingerir alimentos simultáneamente
- Hacer ejercicio intenso sin haber ingerido una colación apropiada
- Equivocarse en la dosis del hipoglucemiante como le puede ocurrir a personas de edad avanzada que olvidan si ya tomaron la medicina o que no ven bien la dosis de la insulina que están empacando en la jeringa, etcétera.

La hipoglucemia en la persona con DM debe ser manejada en forma sistemática. Este manejo suele seguir los siguientes pasos:

- Administrar una sola dosis de azúcar simple que puede ser un vaso de gaseosa corriente o un vaso de agua con tres cucharadas de azúcar, o el equivalente a 20-25 g de glucosa.
- Si la persona ha perdido el conocimiento o se encuentra obnubilada y se niega a ingerir azúcar, se le aplica una ampolla subcutánea o intramuscular de un miligramo de glucagón o se le administra un bolo intravenoso de dextrosa que contenga 25 g.
- Después de haber recibido la dosis oral o parenteral de glucosa y siempre y cuando esté consciente y se sienta en capacidad de ingerir alimentos, la persona debe ingerir una colación rica en carbohidratos. (13)(50)

## **2. HIPERGLUCEMIAS SEVERAS**

Las dos formas de presentación de la descompensación hiperglucémica severa son el estado hiperosmolarhiperglucémico no cetósico (EHHNC) y la cetoacidosis diabética (CAD), las dos comparten características comunes y su manejo es muy similar.(42)(45)

### **a. CETOACIDOSIS DIABÉTICA**

Se le define como un síndrome causado por déficit de insulina y/o desenfreno de las hormonas catabólicas, caracterizado por hiperglicemia, deshidratación, desequilibrio electrolítico y acidosis metabólica, afectando preferentemente a los diabéticos tipos I, pero no es infrecuente en los diabéticos tipo II en condiciones de estrés metabólico.(50)

### **FISIOPATOLOGÍA**

La cetoacidosis es desencadenada por un déficit de insulina e incremento de las hormonas de contrarregulación. Las concentraciones séricas de glucagón, catecolaminas, cortisol y hormona de crecimiento están elevadas, ya que el diabético sobrerresponde al estrés con un mayor aumento de estas hormonas producto del déficit de insulina; esta alteración endocrina condiciona una serie de manifestaciones metabólicas:

- La Hiperglicemia es secundaria a una menor utilización de la glucosa y a una mayor producción endógena, por incremento de la neoglucogenia y glicogenolisis. La hiperglicemia produce una hiperosmolaridad extracelular y deshidratación celular compensatoria, que a nivel encefálico se expresa con compromiso de conciencia.
- En la deshidratación el incremento de la glucosa en el filtrado glomerular, aumenta la carga tubular superando la capacidad máxima de reabsorción, como consecuencia de ello se produce glucosuria y diuresis osmótica, perdiendo agua entre 50-100 mL/kg de peso, en los casos más severos se desencadena un shock hipovolémico.

- Como consecuencia de la diuresis osmótica hay importantes pérdidas de electrolitos: 7 a 10 mEq de sodio, 3 a 5 mEq de potasio, 5 a 7 mEq de cloro, 1 mmol de fósforo y 0.5-0.8 mEq de magnesio, todos expresados por kg de peso; pese a ello, las concentraciones plasmáticas pueden estar levemente bajas o normales, existiendo una correlación inversa entre los niveles de sodio y la glicemia. Los niveles del cloro son habitualmente normales. Las concentraciones plasmáticas de potasio y fósforo, electrolitos intracelulares, se encuentran normales o altas y ello se explica por su salida acompañando la movilización de los sustratos endógenos. En el caso del potasio, juega también un rol importante el mecanismo tampón celular para mantener el equilibrio ácido básico, ya que cuando hay acidosis la célula captura hidrogeniones y entrega potasio al extracelular.
- La acidosis metabólica es producto de la retención de cetoácidos: ácidos acetoacético y beta hidroxibutírico, estos son sintetizados en el hígado, usando como sustratos los ácidos grasos libres cuya movilización está aumentada. Además, la síntesis hepática está especialmente favorecida y su utilización periférica está disminuida. El glucagón juega un rol fundamental en la generación de los cetoácidos.
- Hay mayor riesgo de trombosis venosas y arteriales en pacientes de edad, con daños vasculares producto de la macroangiopatía (ateroesclerosis) y de la hipercoagulabilidad por la descompensación metabólica aguda (mayor agregación plaquetaria, hiper viscosidad sanguínea y reducida la fibrinólisis).
- La hiperglicemia y la acidosis deterioran la inmunidad celular específica e inespecífica. Hay defectos en la adhesión y migración de los polimorfonucleares, menor actividad fagocitaria de los monocitos y una menor respuesta proliferativa de los linfocitos. Algunos gérmenes (hongos) aumentan su virulencia. (13)(50)

## **SÍNTOMAS Y SIGNOS**

Los principales síntomas son: aumento de la polidipsia y poliuria, astenia, somnolencia, anorexia y síntomas gastrointestinales (náuseas, vómitos y dolor abdominal). Estos

últimos son atribuibles a gastroectasia y distensión de la cápsula hepática por infiltración grasa y glicogenosis.

Los signos más frecuentes son la deshidratación, la hiperventilación y la halitosis cetónica, el compromiso de conciencia es variable desde la normalidad al coma profundo, dependiendo estrictamente de la hiperosmolaridad.(37)(61)

## **ALTERACIONES BIOQUÍMICAS**

- La hiperglicemia oscila entre 250-750 mg/dL. No es infrecuente observar niveles bajos en diabéticos tipo I, aunque tengan una profunda acidosis metabólica, en cambio, en pacientes con gran contracción de volumen las glicemias son significativamente mayores.
- La Hiperosmolaridad oscila entre 280-330 mOsm/l. Puede estimarse por la siguiente fórmula:  $2(\text{Na} + \text{K}) \text{ mEq/l} + \text{Glicemia mg/dL} + \text{Nitrógeno ureico plasmático mg/dL}$
- El pH en sangre arterial y venosa se presenta bajo, llegando en ocasiones a cifras menores de 7.
- Los niveles séricos de cloro son normales, los de sodio normales o bajos y los de fósforo y potasio normales o altos. La eventual elevación del potasio sérico debe destacarse por su implicancia en la terapia de reemplazo.
- Frecuentemente existe leucocitosis y marcada desviación a la izquierda. Elevación de las amilasas, transaminasas, creatinfosfokinasa y amilasuria. También puede incrementarse la concentración de triglicéridos séricos y aparecer quilomicrones.(10)(61)

## **b. ESTADO HIPEROSMOLAR HIPERGLUCÉMICO NO CETÓSICO**

Se caracteriza por hiperglicemia, severa deshidratación, hiperosmolaridad asociada a compromiso de conciencia y ausencia de acidosis metabólica significativa, además afecta de preferencia a pacientes sin Diabetes Mellitus previa o con diabetes tipo 2; tiene una elevada letalidad.

Aún hay aspectos no aclarados de la fisiopatología de este estado, al igual que en la cetoacidosis, su causa es una insuficiencia insulínica y/o desenfreno de hormonas catabólicas; la explicación más plausible para la ausencia de cetoacidosis es la persistencia de niveles significativos de insulina que a nivel hepático son suficientes para inhibir la cetogénesis, pero no para mantener la utilización periférica de la glucosa. (1)(44)

La generación de la hiperglicemia, glucosuria, diuresis osmótica, deshidratación y desequilibrio electrolítico se explica en forma similar a lo que sucede en la cetoacidosis diabética. Su evolución insidiosa y prolongada, en ausencia de síntomas derivados de la acidosis metabólica (que motivan la consulta precoz), explican la gran contracción de volumen y la gran elevación de la glicemia. La deshidratación con frecuencia lleva a un shock hipovolémico y compromiso de la función renal, provocando una retención del nitrógeno ureico de la sangre. La hiperosmolaridad propia del síndrome, se explica por la extrema hiperglicemia y por la frecuente elevación del sodio plasmático. La retención de sodio puede deberse a insuficiencia renal y/o a alteración de los mecanismos de regulación de la homeostasis del sodio a nivel renal. La deshidratación, el shock hipovolémico y la hipercoagulabilidad propia del síndrome, favorecen las trombosis e isquemias en territorios coronario, cerebral, distal y visceral. Ello puede ser facilitado por la presencia de ateromas y circulación crítica en estas áreas y por el síndrome de coagulación intravascular secundario a la sepsis, importante causa desencadenante de este síndrome. (20)

La elevada diuresis lleva a una severa pérdida de electrolitos, pero al igual que en la cetoacidosis diabética, los cationes intracelulares (K y P) pasan al extracelular al movilizarse los sustratos metabólicos. Ello explica la eventual elevación plasmática del potasio y fósforo. (22)(45)

Las causas más frecuentes son las infecciones, aunque existen múltiples factores: accidentes vasculares, pancreatitis aguda, hemodiálisis y peritoneo-diálisis, nutrición parenteral y algunos agentes terapéuticos como corticoides, diuréticos, inmunosupresores y citotóxicos. (42)

## **SIGNOS Y SÍNTOMAS**

- La Hiperglicemia significativamente es superior a la de la cetoacidosis diabética, oscilando entre 700-1700 mg/dL.
- La Hiperosmolaridad, constituye el elemento clave del diagnóstico, para ello se exige una osmolaridad plasmática mayor de 340 mOsm/l.
- Los niveles del sodio plasmático son habitualmente normales o altos, aunque excepcionalmente pueden ser bajos en la fase inicial, para subir durante la rehidratación. Los niveles de cloro son normales y los de potasio y fósforo, normales o altos.
- Puede existir un cierto grado mínimo de cetoacidosis, lo que se aprecia por una reacción positiva en el plasma no diluido. La determinación en suero diluido al 1:8 es habitualmente negativa.
- El pH y el bicarbonato pueden ser normales o reflejar una discreta acidosis metabólica. El anión gap puede estar discretamente elevado. En condiciones de shock hipovolémico o tóxico por sepsis es posible observar una acidosis metabólica significativa (láctica o urémica)
- El Nitrógeno ureico del plasma habitualmente se encuentra elevado.(48)

## **MANEJO DEL ESTADO HIPEROSMOLAR HIPERGLUCÉMICO NO CETÓSICO Y LA CETOACIDOSIS DIABÉTICA**

Se debe manejar en un medio hospitalario y es recomendable que durante las primeras horas esté siempre presente un profesional de la salud especializado en el cuidado de la diabetes. Entre los elementos mínimos que debe tener el centro hospitalario debe figurar un equipo de hidratación parenteral que permita cuantificar microgoteo y un glucómetro con tirillas reactivas.(15)(42)

Manejo inmediato (primeras dos a tres horas):

1. Hidratación: la reposición debe hacerse en lo posible con solución salina normal; el paciente requiere 1 a 1.5 litros en la primera hora y otro tanto en las siguientes dos

horas. La velocidad del goteo depende del grado de hipovolemia y requiere un monitoreo muy cuidadoso si el paciente presenta alguna evidencia de falla cardíaca o renal. En el EHHNC la reposición de la volemia es crucial y debe ser vigorosa.

2. Insulina: se administra en infusión continua a razón de 0.1 unidad por kg de peso y por hora. Debido a la resistencia a la insulina generada por la cetoacidosis, el paciente con CAD suele requerir un bolo IV inicial de 0.4 unidades por kg que se repite a la hora si la glucemia no ha descendido al menos un 10%.
3. Potasio: se inicia una vez que se haya demostrado diuresis y cuando la acidosis esté parcialmente corregida. Se recomienda no administrar más de 40 mEq/hora.
4. Bicarbonato: su empleo es controvertido pero tiende a ser favorable cuando el pH es menor de 7.0 y la vida del paciente está en peligro. Generalmente basta con una infusión de 1 a 2 mEq por kg de peso en la primera hora o hasta que el pH se eleve a 7.0 o 7.1. Cuando se administra bicarbonato se debe iniciar al mismo tiempo la reposición de potasio.
5. Monitoreo de glucemia: debe hacerse cada hora con glucómetro que permita conocer el modificaciones del caso. Se considera que el paciente ha superado la fase aguda cuando el pH es mayor de 7.3 y/o la osmolaridad es menor de 330 mOsm/l. Para entonces no debe haber signos de hipovolemia y la glucemia debe estar igual o menor a 250 mg/dL.(50)

## TRATAMIENTO ULTERIOR

1. Hidratación: en lo posible la hidratación debe continuarse por vía oral con agua *ad libitum*. Si el paciente no tolera aún la vía oral, se puede continuar la hidratación con soluciones calóricas como dextrosa en agua destilada o en solución salina al 5% y una infusión de insulina cristalina a razón de 0.2 unidades por gramo de dextrosa.
2. Nutrición: se debe iniciar la vía oral tan pronto la tolere el paciente, con pequeñas porciones de carbohidratos fraccionadas en el día.
3. Insulina: una vez restablecida la vía oral, se puede iniciar insulina cristalina subcutánea a razón de 5 a 10 unidades antes de cada comida principal que se pueden ajustar con base en el valor de glucemia al momento de la aplicación.(5)(42)



## COMPLICACIONES

1. Hipoglucemia: se previene iniciando oportunamente la reposición de calorías. Se recomienda comenzar infusión de dextrosa (DAD o DSS al 5%) cuando la glucemia ha descendido a 250 mg/dL.
2. Edema cerebral: se previene evitando al inicio soluciones hipotónicas como la solución salina al medio normal. Estas sólo se recomiendan cuando la hiperosmolaridad es muy severa y sostenida (osmolaridades por encima de 360 mOsm/l).
3. Hipokalemia: se previene administrando potasio oportunamente (ver manejo inicial).
4. Acidosis hiperclorémica: se previene evitando el exceso de solución salina. Por ello se prefiere la hidratación por vía oral tan pronto sea posible.
5. Trombosis venosa: se previene con adecuada hidratación, movilización temprana y profilaxis con heparinas de bajo peso molecular.

Con frecuencia las descompensaciones agudas severas del paciente con diabetes son causadas por enfermedades intercurrentes como las infecciones cuyo diagnóstico y tratamiento deben ser oportunos y adecuados.(13)(50)

### 1. 2.9.2 Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus

Estas complicaciones crónicas, que comenzaron a conocerse 20 años después del descubrimiento de la insulina, emergieron como una “nueva” amenaza para la calidad de vida de los diabéticos, y constituyen hoy día problemas mayores de salud pública a nivel mundial. Las complicaciones microvasculares crónicas de la diabetes son tres: retinopatía, nefropatía y neuropatía; siendo el gran culpable, la hiperglicemia.(1)(28)

Entre las décadas de 1940 y 1970, se sabía que las complicaciones crónicas existían, y que aparecían varios años después del diagnóstico de la diabetes, inicialmente, los médicos las consideraron, con criterio algo fatalista, como parte de la historia natural de la enfermedad; sin embargo, en la década de los años ‘70 comenzaron a aparecer diversos estudios retrospectivos que correlacionaban la severidad de las complicaciones, con la mala calidad del control glicémico de los diabéticos.(29)

Finalmente, en 1993 quedó demostrado que el control estricto de la glicemia en diabéticos era capaz de reducir drásticamente la aparición de complicaciones crónicas. El estudio DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) mostró que, en gran parte, la fisiopatología de las tres complicaciones crónicas de la diabetes tiene un punto en común para el origen de la retinopatía, la nefropatía y la neuropatía: la hiperglicemia, en donde la sumatoria de las elevaciones de la glicemia a través de los años, va desencadenando procesos bioquímicos y físico-químicos en los tejidos, los que finalmente se manifiestan como los síntomas y signos clásicos de estas complicaciones. (26)(36)

El estudio DCCT también demostró los enormes beneficios del buen control de la glicemia: reducción en la aparición de neuropatía (en 76%), nefropatía (en 56%) y neuropatía (en 60%). Se demostró también que, mientras más cercana a lo normal se mantiene la glicemia y la hemoglobina glicosilada, mayor es el beneficio en la reducción de complicaciones.(36)

## **1. COMPLICACIONES OFTALMOLÓGICAS**

Las complicaciones oftalmológicas son de alta prevalencia y severidad en el paciente con diabetes; entre un 20 y 80% las padecen a lo largo de la evolución de la enfermedad; es así que esta constituye la segunda causa de ceguera en el mundo. Un 10 a 25% de los pacientes pueden tener retinopatía desde el momento del diagnóstico de la DM2; por ello se debe realizar el examen oftalmológico en la primera consulta. (13)(29)

Todas las estructuras del globo ocular pueden verse afectadas por la DM; incluso algunas alteraciones visuales pueden tener origen en estructuras extraoculares, como es el caso de las neuropatías de los oculomotores, las neuritis del trigémino o del segundo par craneano; así mismo, las infecciones oftalmológicas siempre deben ser una consideración prioritaria en el diabético.(6)(29)

Esta complicación crónica está estrechamente relacionada con el daño que la hiperglicemia es capaz de hacer especialmente en los capilares de la retina; los pericitosretinales son los primeros en ser afectados, ya que acumulan sorbitol, pierden capacidad contráctil, y mueren, simultáneamente, ocurre una vasodilatación capilar, que

se debe en parte a la pérdida de pericitos, y en parte a la activación de la *b2 - ProteínKinasa C*. Ya a estas alturas hay aumento de la permeabilidad capilar; sin embargo, tienen que transcurrir 5 o más años desde el comienzo de la hiperglicemia para que esta permeabilidad aumentada de la membrana basal (glicosilación) produzca exudados céreos por exudación de lípidos y microhemorragias por grietas en los capilares. En este mismo momento comienzan a perderse las células endoteliales, debilitándose la pared capilar y dando origen a microaneurismas. Años después, la pérdida de células endoteliales llega a tal punto que se da origen a los ‘capilares acelulares’, simples tubos de membrana basal, obstruidos en parte por microtrombos originados en el interior de los microaneurismas. A partir de este momento hay isquemia en extensas áreas de la retina, produciéndose microinfartos que se ven en el oftalmoscopio como ‘exudados algodinosos’. Como respuesta a la isquemia, la retina secreta un ‘factor angiogénico’, que estimula la génesis de capilares de neoformación. Estos nuevos capilares son frágiles, y se rompen con gran facilidad, dando origen a hemorragias mayores en la retina primero, y en el cuerpo vítreo después. Es la hemorragia vítrea la responsable final de la ceguera en la mayoría de los diabéticos.(29)

El control óptimo de la glucemia y de la presión arterial han demostrado ser de la mayor utilidad en la prevención primaria y secundaria de la retinopatía diabética, el hábito tabáquico, la hipertensión arterial y las dislipidemias son patologías asociadas frecuentes y que incrementan el riesgo de morbilidad ocular; hasta el presente, ningún tratamiento farmacológico ha demostrado ser efectivo para prevenir o tratar la retinopatía diabética en humanos. Sin embargo, la remisión oportuna al oftalmólogo permite determinar entre otras cosas el momento adecuado para iniciar fotocoagulación de la retina como medida de prevención terciaria.(39)

## **CLASIFICACIÓN DE LAS OFTALMOPATÍAS**

### **RETINOPATÍA DIABÉTICA**

- Retinopatía no proliferativa (basal): hallazgo de microaneurismas y hemorragias (puntos rojos) y/o exudados duros; en especial los exudados circinados cercanos a la mácula porque sugieren presencia de maculopatía.

- Retinopatía preproliferativa: presencia de áreas isquémicas (exudados algodonosos, zonas no perfundidas visibles mediante angiofluoresceinografía, etcétera).
- Retinopatía proliferativa: presencia de vasos de neoformación en cualquier sitio de la retina, hemorragias prerretinianas, aparición de tejido fibroso, rubéosis del iris.
- Maculopatía: presencia de edema macular que puede no ser visible con la oftalmoscopia de rutina. Es una de las causas de pérdida rápida de agudeza visual.
- Catarata: La opacificación del cristalino es más frecuente y precoz en la persona con diabetes.
- Glaucoma: Se puede presentar especialmente cuando hay compromiso proliferativo de los vasos de la cámara anterior del ojo. La determinación de la presión intraocular debe ser de rutina en la persona con diabetes.
- Córnea: Aunque las lesiones de córnea no son más frecuentes en el diabético, cuando tienen un origen infeccioso pueden ser más difíciles de tratar y requieren atención especial.(6)(45)

## **2. COMPLICACIONES RENALES**

La nefropatía puede estar presente en el 10 al 25% de los pacientes con DM2 al momento del diagnóstico, aunque existen cambios precoces relacionados con la hiperglucemia como la hiperfiltración glomerular, el riesgo de desarrollar una insuficiencia renal solamente se hace significativo cuando se empieza a detectar en la orina la presencia constante de albúmina en cantidades significativas que se pueden medir mediante métodos de inmunoensayo pero todavía no son detectables con los métodos químicos para medir proteinuria, por este motivo a dichas cantidades de albúmina en la orina se les denomina microalbuminuria. Un 20-40% de los pacientes con microalbuminuria progresa a nefropatía clínica y de éstos un 20% llega a insuficiencia renal terminal al cabo de 20 años.(63)

Esta causa el 44% de todas las insuficiencias renales terminales en el mundo occidental; la hiperglicemia crónica es también la responsable de esta complicación; en los primeros años de la diabetes, la hiperglicemia produce cambios funcionales, como son la vasodilatación de las arteriolas aferente y eferente (*Aldosa Reductasa* y *b2* -

*ProteínKinasa C* activadas), con aumento del flujo plasmático renal. Sin embargo, la activación de la *b2 -ProteínKinasa C* hace que la vasodilatación sea mayor en la arteriola aferente que en la eferente, aumentando la presión de filtración y la filtración glomerular.(26)

Ya después de 5 años de diabetes, la hiperglicemia se ha traducido en cambios moleculares y estructurales, el engrosamiento de la pared de las arteriolas aferente y eferente (glicosilación) normaliza eventualmente el flujo plasmático renal, y la membrana basal glomerular se engruesa y aumenta su permeabilidad, apareciendo microalbuminuria primero (30-200 mg/24 horas), y macroalbuminuria después (>200 mg/24 horas). Simultáneamente las células mesangiales se multiplican (activación de *b2 -ProteínKinasa C*) y aumenta la cantidad de matriz mesangial. En esta etapa el paciente tiene macroalbuminuria en el rango de síndrome nefrótico, con hipertensión arterial en casi todos los casos. Finalmente, la suma de matriz mesangial aumentada, más el engrosamiento de la membrana basal glomerular, van estrangulando a las asas capilares, reduciendo progresivamente el lumen de éstos.(26)(37)

En esta situación sobreviene una progresiva disminución del flujo plasmático renal y de la filtración glomerular, que llevan al paciente a la insuficiencia renal terminal. La lección más importante que da el conocimiento de la fisiopatología de la nefropatía diabética, es que la hiperglicemia ya está produciendo drásticos cambios en la fisiología renal años antes de la aparición de macroalbuminuria, hipertensión y caída de la función renal. De allí la importancia del buen control de la hiperglicemia desde el momento del diagnóstico de la Diabetes. (37)

## **CLASIFICACIÓN DE LA NEFROPATÍA**

### **a. NEFROPATÍA INCIPIENTE (TEMPRANA O SUBCLÍNICA)**

Caracterizada por la presencia de microalbuminuria persistente en dos o más muestras tomadas durante un intervalo de tres meses.

**b. NEFROPATÍA CLÍNICA**

Caracterizada por la presencia de proteinuria detectable mediante métodos químicos de rutina, se considera una etapa por lo general irreversible que tiende a progresar a la insuficiencia renal crónica y puede también producir un síndrome nefrótico; en esta etapa se suele detectar por primera vez la elevación de la tensión arterial, aunque en muchos pacientes la hipertensión arterial antecede a la nefropatía y de hecho se constituye en un factor de riesgo para ella.

Esta etapa puede subdividirse en leve a moderada cuando sólo hay proteinuria y severa cuando ya hay deterioro de la función renal determinada por una depuración de creatinina inferior a 70 cc/min con elevación de la creatinina sérica.

**c. INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA AVANZADA**

Se caracteriza por una disminución del aclaramiento o depuración de la creatinina por debajo de 25-30 mL/min. A partir de este momento ya se empiezan a presentar otros problemas como las alteraciones en el metabolismo del calcio y fósforo, la anemia, la insuficiencia cardíaca, etcétera. Por lo tanto el paciente debe ser remitido al nefrólogo si el médico no dispone de entrenamiento especializado en el manejo integral del paciente renal crónico.

**d. FALLA RENAL TERMINAL**

Se considera que el paciente ha alcanzado la etapa de nefropatía terminal cuando la depuración de creatinina es igual o inferior a 10 cc/min y/o la creatinina sérica igual o mayor a 3.4 mg/dL (300 mmol/l). En esta etapa ya el paciente requiere diálisis y eventualmente un trasplante de riñón, aunque en la persona con diabetes se tiende a adoptar estas medidas en forma más temprana.

Se debe tener en cuenta que hasta un 10% de las nefropatías en personas con diabetes pueden ser de origen no diabético. Esto se debe sospechar especialmente cuando no hay evidencia de retinopatía asociada en un paciente con nefropatía clínica. En pacientes de edad avanzada debe tenerse en cuenta la posibilidad de una estenosis de la arteria renal,

en cuyo caso estarían contraindicados los inhibidores de la enzima convertidora (IECA).(1)(44)

### 3. COMPLICACIONES NEUROLÓGICAS

La neuropatía diabética es la complicación más frecuente y precoz de la diabetes, a pesar de ello suele ser la más tardíamente diagnosticada, su prevalencia es difícil de establecer debido a la ausencia de criterios diagnósticos unificados, a la multiplicidad de métodos diagnósticos y a la heterogeneidad de las formas clínicas; su evolución y gravedad se correlacionan con la duración de la enfermedad y el mal control metabólico.(33)

La detección depende de la sensibilidad de los métodos diagnósticos empleados, así por ejemplo, a través de métodos electrofisiológicos es posible detectar neuropatía en la casi totalidad de los pacientes diabéticos en el momento del diagnóstico o poco tiempo después.(34)

Existe la posibilidad de que una persona con DM2 padezca otros síndromes neurológicos distintos a aquellos causados por la diabetes, por lo que el clínico debe estar atento al diagnóstico diferencial. Los diferentes síndromes clínicos de la neuropatía diabética se superponen y pueden ocurrir simultáneamente, por eso resulta difícil clasificarlos. En la Tabla No 5.se describen las características de las diferentes formas de neuropatía con base en una clasificación adaptada para el uso del clínico no especializado.(33)(50)

Esta complicación de la hiperglicemia está relacionada con la activación de la *Aldosa Reductasa* y con la glicosilación de proteínas. La activación de *b2 -ProteínKinasas* poco o nada tiene que ver con esta complicación, ya que en las fibras nerviosas sometidas a hiperglicemia no existe un aumento sino una disminución del diacilglicerol.(29)(44)

Muy precozmente en la evolución de la Diabetes, la activación de la *Aldosa Reductasa* en el nervio produce una depleción de Mioinositol, lo que lleva a una disminución del diacilglicerol. Esto produce una menor actividad de la  $ATPase_{Na^+/K^+}$  y edema axonal. En estas circunstancias ya se observa una disminución en la velocidad de conducción nerviosa. El edema también puede producir compresión de nervios que pasan por canales

óseos inextensibles, como los pares craneanos (mononeuropatías), fenómeno que puede ocurrir a poco de diagnosticada la Diabetes, y que es reversible. (29)

Más adelante, la combinación de obstrucción de vasa nervorum (arteriolosclerosis y engrosamiento de membrana basal), más la glicosilación de la mielina, que la hace apetecible a los macrófagos, produce desmielinización segmentaria. A esto se agrega la glicosilación de la tubulina, con severo daño del transporte axonal. Este último fenómeno produciría mayor daño en las fibras más largas, lo que explicaría la mayor severidad distal de la neuropatía diabética.(26)(44)

Clásicamente, esta secuencia de eventos hace que en una biopsia de nervio periférico, aparezca una combinación simultánea de fibras normales, fibras desmielinizadas, fibras destruidas, y axones en regeneración. Cabe recalcar que la susceptibilidad de las fibras nerviosas al daño por la diabetes no es la misma para cada tipo de fibra. En general, las fibras mielinizadas gruesas (motoras, sensibilidad táctil y vibratoria) son más resistentes a la hiperglicemia y más susceptibles al daño por la isquemia. Por otro lado, las fibras mielinizadas delgadas, y las fibras no mielinizadas (sensaciones de dolor y calor), son más sensibles al daño por hiperglicemia y más resistentes a la isquemia. Es por esta razón que los diabéticos pueden perder la sensibilidad al dolor y al calor en los pies, años antes de tener pérdida de sensibilidad vibratoria o táctil.(35)(50)

El daño que produce la hiperglicemia en los nervios periféricos no sólo ocurre precozmente en la Diabetes, sino que es extraordinariamente frecuente. También, por su naturaleza, puede producir una variada gama de manifestaciones clínicas. Sin embargo, el conocimiento de su fisiopatología le permitirá entender que el clínico no debe esperar a que estas manifestaciones clínicas aparezcan para comenzar a luchar por obtener glicemias normales en los diabéticos. La neuropatía, junto con las otras complicaciones crónicas de la diabetes nos enseñan que el médico debe hacer esfuerzos por obtener euglicemia.(50)



**TABLA No 5. CLASIFICACIÓN DE LAS FORMAS CLÍNICAS MÁS COMUNES DE LA NEUROPATÍA DIABÉTICA.**

CLASIFICACIÓN	MANIFESTACIONES CLÍNICAS MÁS IMPORTANTES	ÁREA AFECTADA
Neuropatía periférica (distal y simétrica)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dolor, disestesias y parestesias de predominio nocturno</li> <li>- Pérdida de la sensibilidad</li> <li>- Disminución o abolición del reflejo aquiliano</li> <li>- Suele ser progresiva</li> </ul>	Extremidades, de predominio en miembros inferiores
Mononeuropatía de nerviocraneano	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dolor agudo localizado de comienzo brusco seguido de parálisis que suele ser reversible</li> </ul>	Pares craneanos III, IV, VI o VII.
Neuropatía toracoabdominal (truncal, radiculoneuropatía)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dolor agudo localizado</li> <li>- Pérdida de sensibilidad</li> <li>- Usualmente unilateral</li> <li>- Puede haber pérdida de peso</li> <li>- Suele ser reversible</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pared torácica baja</li> <li>- Pared abdominal</li> <li>- Difusa en todo el tronco</li> </ul>
Mononeuropatías por atrapamiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dolor localizado</li> <li>- Compromiso motor (excepto en la meralgiaparestésica)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Túnel del carpo</li> <li>- Cubital en el codo</li> <li>- Radial</li> <li>- Ciática</li> <li>- Peroneal (pie caído)</li> <li>- Femoral lateral cutánea (meralgia parestésica)</li> </ul>
Plexopatía (neuropatía proximal, amiotrofia diabética)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dolor</li> <li>- Debilidad muscular</li> <li>- Hipotrofia muscular usualmente asimétrica</li> <li>- Arreflexia rotuliana usualmente asimétrica</li> <li>- Pérdida de peso</li> <li>- Depresión</li> <li>- Suele ser reversible</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cintura pélvica</li> <li>- Generalizada (caquexia neuropática)</li> </ul>
Neuropatía hipoglucémica	Parestesias seguidas de debilidad y atrofia simétricas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Principalmente en región tenar, hipotenar y músculos interóseos de manos</li> <li>- Pies</li> </ul>
Neuropatía autonómica	Dependen del sistema afectado	Sistemas cardiovascular, digestivo y genitourinario

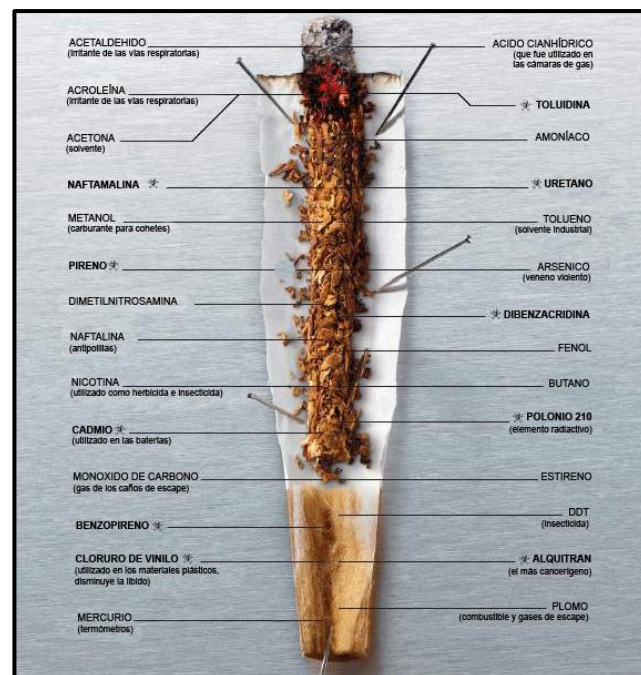
FUENTE: GUÍAS ALAD 2009.

### 1.3 EL TABACO

El tabaco es uno de los principales productos agrícolas, no alimenticios del mundo; la planta madura mide de 1 a 3 m de altura y produce entre 10 y 20 hojas grandes; estas se secan, curan y utilizan para fabricar cigarrillos, puros y tabaco de pipa y de mascar.

### 1.3 EL CIGARRILLO

El cigarrillo es uno de los formatos más populares en el consumo de tabaco, este es un producto de la agricultura originario de América y procesado a partir de las hojas de varias plantas del género *Nicotianatabacum*: *brasiliensis*, *havanensis*, *virginica* y *purpurea*. (18)(57)



FUENTE: MEDICINA INTERNA 2010.

**FIGURA No. 4 COMPONENTES DEL CIGARRILLO**

El tabaco recolectado se mezcla con diferentes sustancias aromatizantes, y se expone al aire o calor artificial, a la hoja obtenida se le añade aditivos para mejorar el sabor y otras características y se trocea; esta mezcla se envasa dentro de un cilindro de papel al que se le coloca en un extremo un filtro de celulosa, de mayor a menor porosidad. (19)

Su consume de varias formas, siendo la principal por combustión produciendo humo; en el extremo del cigarrillo que se está quemando se alcanzan temperaturas próximas a los 1000°C, lo que transforma numerosos componentes originales de la planta y genera complejas reacciones químicas que dificultan la identificación completa de todas las sustancias que existen o se generan en el proceso de fumar. (57)(60)

Hasta ahora se han reconocido cerca de 5.000 elementos químicos tanto en la fase gaseosa como en la sólida o de partículas del humo del tabaco; es bastante diferente la composición de la corriente principal que aspira el fumador y la secundaria que se escapa del cigarrillo al ambiente. (57)

**TABLA No 6. ALGUNOS COMPONENTES DE LA FASE DE PARTÍCULAS DEL HUMO DEL CIGARRILLO**

<b>COMPONENTE</b>	<b>CONCENTRACIÓN MEDIA POR PITILLO</b>
Alquitrán	1-40 mg
Nicotina	1-2.5 mg
Fenol	20-150 mg
Catecol	130-280 mg
Pireno	50-200 mg
Benzo (a) pireno	20-40 mg
2.4 Dimetilfenol	49 mg
m- y p-Cresol	20 mg
p-Etilfenol	18 mg
Sigmasterol	53 mg
Fitosteroles (toal)	130 mg

FUENTE: SURGEON GENERAL, 1979.

**TABLA No 7. ALGUNOS COMPONENTES DE LA FASE GASEOSA DEL HUMO DEL CIGARRILLO**

<b>COMPONENTE</b>	<b>CONCENTRACIÓN MEDIA POR CIGARRILLO</b>
Dióxido de carbono	20-60 mg
Monóxido de carbono	10-20 mg
Metano	1.3 mg
Acetaldehido	770 mg
Isopreno	582 mg
Acetona	100-600 mg
Cianidina de hidrógeno	240-430 mg
2-Butanona	80-250 mg
Tolueno	108 mg
Acetonitrilo	120 mg
Acroleína	84 mg
Amoniaco	80 mg
Benceno	67 mg
Nitrobenceno	25 mg

FUENTE: SURGEON GENERAL, 1979.

Las cifras expuestas anteriormente son las más comunes y/o frecuentes encontradas en las diferentes fases, pero cabe resaltar que se observan variaciones cuantitativas de los mismos en los diferentes tipos de cigarros, debido a características del propio cigarro, tipo de filtros, factores de producción, uso de fertilizantes, métodos analíticos, etc. La International Agency for Research on Cancer (IARC) ha incluido algunos agentes químicos procedentes del humo del tabaco en el “Grupo I de carcinógenos humanos”: benceno, Cd, As, Ni, Cr, 2-naftil-amino, cloro vinil, 4 aminobifenil y Be. Cuando se usan los piretroides como insecticidas en el cultivo del tabaco, algunos residuos de estos componentes pueden aparecer en el humo del cigarrillo. (30)

### 1.3.1 TOXICOCINÉTICA DEL HUMO

La combustión del tabaco origina dos corrientes:

1. Una corriente principal mediante maniobra de aspiración que el fumador dirige hacia su propio aparato respiratorio, pasando de la cavidad oral directamente a los pulmones.
2. Una corriente secundaria o lateral que se produce al consumirse espontáneamente el cigarrillo, que es la que inhala el fumador pasivo. (57)

**TABLA No 8. CARACTERÍSTICAS DE LOS DIVERSOS COMPONENTES DEL HUMO DE CIGARRILLO EN LA CORRIENTE PRINCIPAL Y SECUNDARIA**

CARACTERÍSTICAS	CORRIENTE PRINCIPAL	CORRIENTE SECUNDARIA
Tamaño de partículas	0,1 - 1,0	0,01 - 1,0
Temperatura	800 - 900 °C	600 °C
pH	6,0 - 6,7	6,7 - 7,5
O <sub>2</sub>	0,16	0,02
CO	10 - 23 mg	25 - 100 mg
NH <sub>3</sub>	50 - 130	200 - 520
HCN	400 - 500	40 - 125
Nitrosaminas	10 - 40 ng	200 - 4000 ng
Acroleína	60 - 100	480 - 1500
NO <sub>x</sub>	100 - 600	400 - 6000

FUENTE: SURGEON GENERAL, 1979.

La absorción de los componentes va a depender del pH y de la solubilidad, así los

elementos más solubles se absorberán en vías aéreas superiores y los de baja solubilidad se absorberán a nivel alveolar. Una vez absorbidos pasan a circulación ejerciendo su efecto en cerebro y tejidos periféricos. Muchas de estas sustancias no permanecen como tales en el organismo, sino que forman metabolitos o sustancias intermedias que reaccionan con otros componentes del propio organismo o componentes externos.(27)(54)

Detallaremos a continuación la cinética de algunos de los componentes más importantes (nicotina, CO, gases irritantes y sustancias cancerígenas, radicales libres y oxidantes, metales y elementos radioactivos) y sus efectos tóxicos:

#### **1.3.1.1 Nicotina**

Es la responsable de la adicción al tabaco, la mayoría de los cigarrillos del mercado contienen 10 mg o más de nicotina, de la cual se inhala entre 1 y 2 mg/cigarrillo; es el alcaloide más importante (90 - 95 % del total de alcaloides), en el humo de los cigarrillos está principalmente en forma de sales ácidas (en el humo de los puros se encuentra en forma de sales básicas), por lo que su absorción a nivel bucal es mínima; de ahí la necesidad del fumador de hacer inhalaciones profundas para absorber la nicotina a nivel pulmonar, arrastrando consigo todas las sustancias tóxicas presentes en el humo. Del pulmón, a través de la circulación pulmonar, pasa a circulación arterial, por lo que accede al cerebro muy rápidamente, en un plazo de 9-10 segundos. Posteriormente se distribuye vía sanguínea por otros tejidos, como pulmón o hígado. El 90 % de la nicotina presente en circulación sistémica está libre en el plasma lo que facilita el transporte hacia el interior de las células y su unión a receptores específicos. La metabolización ocurre mayoritariamente en el hígado a través del citocromo P-450, formándose metabolitos sin capacidad adictiva: cotinina y nicotina 1'-N-óxido. La excreción de estos metabolitos, así como de la nicotina no metabolizada (entre un 5 y un 10 %) se produce principalmente a través del riñón, dependiendo del pH de la orina (a pH ácido se favorece la eliminación). Otras vías de eliminación son la saliva, el sudor, la leche materna y a través de la placenta. A nivel cerebral una parte de la nicotina se transforma en metabolitos intermedios (como nornicotina) que pueden ser neurotóxicos, y actuar sobre los receptores colinérgicos nicotínicos en el SNC. Recientes investigaciones en ratas han

demostrado que la normicotina tiene efectos estimulantes en el aparato locomotor y refuerza los efectos de la nicotina.(57)

## **EFFECTOS**

Inmediatamente después de la absorción, la nicotina va a producir una activación de las glándulas adrenales y una descarga de adrenalina que produce estimulación corporal y descarga súbita de glucosa, aumento de la presión arterial, la respiración y el ritmo cardíaco. Además, su potencial adictivo también se debe a que produce liberación de dopamina en las regiones del cerebro que controlan las sensaciones de placer y bienestar; hay que tener en cuenta que la nicotina crea tolerancia.(18)(66)

En contraposición, dependiendo de la dosis de nicotina inhalada y del nivel de estimulación del sistema nervioso, la nicotina puede producir efecto sedante. Se piensa que la adicción a la nicotina está mediada por sustancias, como el NO, que actúan como moduladores de la liberación de neurotransmisores. Se piensa que la activación de receptores nicotínicos puede regular la síntesis de NO. Hay una relación entre la nicotina y el NO tanto en el SNC, como en el periférico. Algunos estudios ya han demostrado que a nivel neuronal la nicotina de los cigarrillos reduce la formación de neuronas en los fumadores, y la abstinencia de nicotina se acompaña de deterioro cognitivo. En la tabla 2 se enumeran alteraciones ocasionadas por la exposición a la nicotina.(57)

### **1.3.1.2 Monóxido de carbono**

En los cigarrillos representa entre el 1,9 y el 6,3 % del humo, y en el humo de los puros está entre el 9,7 y el 12,7 %. Se produce en aquellas combustiones incompletas. De forma natural, en el catabolismo de la hemoglobina se forma CO, capaz de saturar el 0,4 - 0,7 % de la hemoglobina del cuerpo; este porcentaje puede subir hasta el 2 % por el CO inhalado del medio urbano, y en fumadores puede llegar hasta el 6 %. Su mecanismo de acción se basa en su extraordinaria afinidad por la hemoglobina, que es hasta 270 veces superior a la del O<sub>2</sub>, por lo que lo desplaza, formando carboxihemoglobina(COHb), que bloquea el transporte de oxígeno a los tejidos e impide la función respiratoria. En un fumador

de 20 cigarrillos/día la concentración aproximada de COHb es de un 5 %. (19)

El transporte plasmático de CO parece ser el principal factor de fijación en los tejidos, especialmente en el sistema citocromo-oxidasa mitocondrial, responsable de la sintomatología debida a la alteración de la respiración celular. Otros mecanismos fisiopatológicos de toxicidad atribuibles al CO son:

- a. Alteración de la actividad mitocondrial y de la fosforilación oxidativa,
- b. Formación de radicales libres en la fase de reoxigenación,
- c. Degradación de ácidos grasos,
- d. Desmielinización reversible del sistema nervioso central por reoxigenación.

Los efectos tóxicos producidos se deben principalmente a la hipoxia tisular y a la lesión tisular directa del propio gas. La toxicidad puede verse incrementada por numerosos factores, como disminución de la presión barométrica, incremento de la ventilación alveolar, la preexistencia de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, anemia, hipovolemia, un incremento de la producción de CO endógeno, etc.(57)

### **1.3.1.3 Gases irritantes y sustancias cancerígenas**

Detienen el movimiento ciliar en las células de la mucosa bronquial, lo que impide que actúe el mecanismo de defensa del aparato respiratorio, por lo que junto a estos gases irritantes van a entrar todas las partículas extrañas que arrastre, depositándose en los alvéolos pulmonares. Los principales son: formaldehído, NO<sub>2</sub>, acroleína, ácido cianhídrico y acetaldehído.(18)

Entre los carcinógenos más potentes aislados del humo están los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y las nitrosaminas. Más del 90 % de los HAP inhalados en el humo del tabaco son retenidos en el tracto respiratorio, actuando fundamentalmente como carcinógenos de contacto. Son sustancias que se activan metabólicamente (intervienen sobre las monooxigenasas microsomales), formando carcinógenos definitivos. (19)

Las N-nitrosaminas se forman durante la elaboración del tabaco; son también

procarcinógenos, y necesitan activación metabólica, interviniendo el sistema P-450 microsomal, produciendo un carcinógeno definitivo (alquildiazonio). También las aminas aromáticas usan el sistema P-450 para su activación hepática. La  $\alpha$ -naftilamina se activa por la acción de la glucuronidasa urinaria.(57)

Un derivado de los HAP bien estudiado es el benzopireno. En algunos tejidos, por la acción de isoenzimas P-450 y epóxido hidrolasas, se transforma en metabolitos reactivos que tienden a unirse covalentemente a zonas nucleófilas del ADN formando aductos. Si estos aductos no se reparan convenientemente mediante mecanismos de defensa del organismo, puede llevar a que en la duplicación del ADN se produzcan errores de copia, dando lugar a mutaciones puntuales que se transmitan a la descendencia celular.(19)(57)

El estudio de la toxicidad del tabaco es muy complejo, porque no sólo se estudian los carcinógenos presentes en este humo, sino que además en el organismo se forman metabolitos que también van a ejercer su toxicidad. Es el caso del 4-(metilnitro-samina)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK,carcinogénico específico del tabaco) que forma un metabolito, 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanol, capaz también de formar aductos, y que está presente en sangre y orina de personas expuestas al humo del tabaco. Investigaciones han demostrado que tanto el NNK, como N'-nitrosornicotina, también están presentes en el jugo pancreático de los fumadores, y contribuyen a la carcinogénesis en humanos.(66)

Otros carcinógenos importantes son los numerosos derivados fenólicos presentes en la corriente principal. La mayor o menor toxicidad de estos fenoles va a depender de su interacción con otros componentes presentes en la corriente principal, así como de la susceptibilidad individual, del metabolismo, de las inhalaciones y conducta del fumador. Se han descrito 253 estructuras fenólicas diferentes, entre los que destacan por su toxicidad el 2-(dimetilamino)-fenol, 2-etil-6-metil-1,4-bencenodiol, 2-metoxi-1,4-bencenodiol, y 4-etilmetoxi-6-metilfenol.(30)

#### **1.3.1.4 Radicales libres y oxidantes**



En el humo del tabaco hay presente importantes cantidades de radicales libres que se generan en la combustión, como el NO (100 mg/L). Al entrar en contacto el humo del cigarro con los alvéolos pulmonares, se van a activar los macrófagos alveolares, lo que va a dar lugar a la formación de más radicales libres de oxígeno, que contribuyen a la inflamación. La presencia de radicales libres en las vías aéreas provoca broncoconstricción o hiperreactividad de estas vías. Los más tóxicos son el anión superóxido, el  $H_2O_2$  y el radical hidroxilo.(57)

En los fumadores el equilibrio oxidante-antioxidante se rompe por:

- Macrófagos alveolares producen mayor cantidad de superóxido y  $H_2O_2$
- Mayor grado de activación de los macrófagos productores de radicales libres de algunas enzimas antioxidantes (superóxidodismutasa, catalasa, pero no de la glutatión peroxidasa)
- Aumento del contenido de ácido ascórbico en los macrófagos de los fumadores
- Aumento del sistema antioxidante extracelular.

En un estudio hecho con fumadores se determinaron las concentraciones plasmáticas de nitritos y nitratos (como índice de la concentración de óxido nítrico), y los cambios en las concentraciones de los mayores antioxidantes de suero (ácido ascórbico, cisteína, metionina y ácido úrico) justo después de fumar un cigarro. Se detectó una disminución temporal en las concentraciones de estos parámetros, que van a contribuir en la vasoconstricción coronaria que se observa después de fumar.(66)

#### **1.3.1.5 Metales y elementos radioactivos (Cd, Be, As, Ni, Cr y Po 210)**

El estudio de estos metales demuestra que son cancerígenos en el hombre, pero parece ser que su principal mecanismo de acción es comutagénico, es decir, interfieren en los procesos de reparación del ADN.

### **1. CADMIO**

Un cigarrillo contiene 1-2 µg de Cd, del cual se llega a inhalar el 10 %. El Cd es un irritante a nivel local (daña la mucosa nasal, el árbol respiratorio y el tubo digestivo), y es un tóxico general; inhibe la absorción intestinal del Ca e impide su depósito en el tejido óseo; se fija a la hemoglobina y a la metalotionina, y posee acción inhibidora de los grupos sulfhidrilos, por lo que bloquea muchos procesos enzimáticos esenciales de nuestro organismo. Es, asimismo, un inductor de la producción de metalotioninas. Se acumula en pulmones, riñón, hígado, páncreas, glándulas tiroides, testículos y glándulas salivales. En intoxicaciones crónicas, y dado que la vida media es muy larga, los efectos producidos en el organismo por la acumulación son:

- Pérdida de peso, anemia con hiperglobulinemia .
- Pigmentación amarilla en el esmalte de los dientes.
- Aparición de proteínas de bajo peso molecular a nivel renal y posteriormente alteración glomerular
- Rinitis, bronquitis y enfisema pulmonar, pudiendo llegar a síndrome obstructivo pulmonar moderado
- Lesiones óseas por la pérdida de fosfato cálcico por el riñón
- Cancerígeno, principalmente de próstata
- Se le ha atribuido ligera acción hipertensiva

En un estudio, comparando niveles de Cd en sangre y orina en un grupo de población, se observó que los ex fumadores que habían dejado de fumar desde hacía más de 5 años presentaban niveles más altos que los que nunca habían fumado. (57)(66)

## **2. BERILIO**

Presenta como vía de entrada la inhalatoria; una parte queda retenida en el pulmón; en sangre va unido a proteínas plasmáticas y puede localizarse en ganglios linfáticos cervicales, intratorácicos y abdominales, riñón, hígado, bazo, médula ósea, músculo esquelético, miocardio, y en la piel. Se excreta principalmente por el riñón, pero una pequeña parte queda acumulada en el hígado y el pulmón. Es un competidor del Mg, e inhibe una enzima que es Mg dependiente (la desoxi-timidilato sintasa), por lo que impide la

síntesis del ADN. Además forma un complejo antigénico con proteínas que tienen su respuesta principal en el tejido pulmonar. El berilio es irritativo de la mucosa y es un carcinógeno en seres humanos.(19)

### **3. ARSÉNICO**

Aparece en sangre y orina y se acumula en uñas y cabellos. Puede afectar a la piel, al sistema nervioso, al aparato respiratorio (con posibilidad de del tabique nasal), y puede producir afecciones cardíacas y hepáticas.(57)

### **4. NÍQUEL**

Afecta al aparato respiratorio produciendo rinitis, sinusitis, perforación del tabique nasal, asma alérgico, cáncer de etmoides, y cáncer broncopulmonar.(30)

### **5. CROMO**

A nivel del aparato respiratorio produce ulceración de la mucosa nasal, perforación del tabique nasal, faringitis, tos, asma, y favorece la aparición de cáncer de pulmón. También pasa a sangre y una parte se elimina por la orina.(18)

#### **1.3.2 TOXICIDAD POR EL HÁBITO DE FUMAR**

La intensidad de los efectos tóxicos va a depender de la cantidad de cigarrillos fumados/día, del número de inhalaciones y de la profundidad de las mismas, del tipo de cigarrillo, así como de la antigüedad del hábito. Es importante considerar no sólo la conducta del fumador, sino también los diferentes patrones de la toxicinética de la nicotina y del resto de los componentes químicos.(66)

Uno de los efectos tóxicos más importante es el cáncer, que se produce por la exposición a una combinación de cancerígenos potenciales, o bien a la exposición de determinadas sustancias que a pequeñas dosis no son peligrosas pero sí tras acumulación en el organismo. Además de haber una relación directa con el cáncer de pulmón, hay

evidencias de la mayor incidencia de otros tipos de cáncer (laringe, esófago, cavidad oral, vejiga y riñón, etc) en los fumadores. (57)

Destacan también en importancia la enfermedad cardiovascular (isquemia coronaria, infarto de miocardio, accidente cerebro vascular, arteriosclerosis), y la respiratoria, pudiendo llegar ésta a sus peores consecuencias que es la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), pasando por bronquitis, asma, etc.(19)

En los fumadores se produce un descenso de los niveles de monoaminooxidasas con respecto a los no fumadores o exfumadores, que se atribuye a un efecto del propio humo y no a una característica biológica del fumador. Esta inhibición de las MAO contribuye a un mayor riesgo de depresión, mayor riesgo de adicción al alcohol y a otras sustancias, y en general, a mayor prevalencia de enfermedades psiquiátricas en fumadores. (19)(57)

Además, existe una relación entre el tabaquismo y el estado nutricional:

- Fumar altera el sentido del gusto y del olfato.
- En el estómago disminuyen las contracciones estomacales por lo que se atenúa la sensación de hambre.
- A nivel de vías digestivas y del hígado se impide la absorción y utilización del complejo vitamínico B.
- Los componentes del humo van a interaccionar con algunas vitaminas (Vit C, ácido fólico, Vit A, etc.).
- Algunos nutrientes inorgánicos (como el Fe, Zn y Cu) se ven afectados por algunos de los metales presentes en el humo, como es el caso del Cd.
- La nicotina aumenta hasta en un 10 % más el gasto energético.

El humo del tabaco produce radicales libres, por lo que es importante el aporte de antioxidantes en la dieta (vit E, algunos carotenos, ácido ascórbico, Mn, Co, Zn y Se). Algunos estudios han concluido que aportes extras de algunos de estos componentes pueden ser perjudiciales; es el caso del caroteno que a dosis altas, unido a la exposición

al humo de los cigarros, potencia los efectos carcinogénicos.

Numerosos estudios han demostrado que las mujeres fumadoras presentan:

- Mayor riesgo de infertilidad
- Retraso en la concepción
- Adelanto de la menopausia
- Incremento de osteoporosis y del riesgo de fractura de cadera.

En caso de embarazo se pueden producir importantes riesgos como:

- Placenta previa.
- Parto prematuro.
- En el desarrollo del cerebro fetal van a influir negativamente la nicotina y el CO, ejerciendo una acción directa sobre el mismo, y también de forma indirecta produciendo hipoxia intrauterina.
- Los efectos directos que se producen en la madre (trastornos de la circulación, taquicardia, aumento de la presión sanguínea) influyen también en el feto.
- Malnutrición fetal por disminución de la vascularización de la placenta y por lo tanto del área de intercambio de gases y nutrientes entre la madre y el feto. Esto implica un retardo en el crecimiento intrauterino del feto.
- Incremento de la mortalidad.

Los efectos producidos en niños de madres fumadoras son:

- Bajo peso al nacer.
- Aumenta el riesgo del síndrome de muerte súbita
- Mayor riesgo de enfermedades respiratorias, de asma infantil
- Retraso en el crecimiento postnatal y en el desarrollo cognitivo a más largo plazo.
- En la lactancia la nicotina pasa al niño a través de la leche materna, pudiendo conferirle un sabor desagradable. El exceso de nicotina puede provocarle

náuseas y diarreas. Al disminuir el apetito de la madre, disminuye la calidad y cantidad de la leche materna.

- Infertilidad masculina(19)(66)

### **1.3.2.1 Tabaco, hipertensión arterial y diabetes**

Gran importancia tiene la asociación de tabaquismo con la excreción urinaria de albúmina en sujetos hipertensos y diabéticos, que a su vez se relaciona con un peor perfil lipídico y es la causa de morbilidad cardiovascular en estos enfermos. El tabaco actúa sobre el riñón por varios mecanismos:

- Indirectamente, por la acción de la nicotina (aumenta la presión arterial), se elevaría la presión intraglomerular y como consecuencia la albuminuria.
- Directamente el tabaco podría ejercer un efecto sobre la hemodinamia glomerular. Se estudió que tanto en fumadores, como en ex fumadores, se producía un aumento significativo de endotelina, que es una sustancia vasopresora que actúa a nivel glomerular. Además, el tabaco altera la función del túbulo proximal renal, reflejándose con una elevada excreción urinaria de beta-hexosaminidasa.(18)

-

Otros efectos adversos del tabaco que influyen nocivamente sobre el riñón:

- Disminución de la sensibilidad a la insulina y mayor prevalencia de dislipemias.
- Acciones sobre las plaquetas, el endotelio vascular y el metabolismo del tromboxano.
- En la diabetes mellitus tipo 1 y 2, el consumo de tabaco acelera la progresión de la nefropatía diabética hacia la insuficiencia renal crónica terminal.(19)

### **1.3.2.2 Otros efectos tóxicos**

La alta incidencia de enfermedad periodontal, caries y neoplasias en el tejido oral en fumadores es debida a los efectos nocivos de los componentes del humo del tabaco. La toxicidad depende del número de cigarrillos fumados por día, y de la duración del hábito. Hay trabajos que demuestran la disminución de la actividad de algunas enzimas que se encuentran en la saliva después de fumar un cigarrillo. La causa parece ser

debida a la interacción de los aldehídos presentes en el humo, con los grupos tioles de enzimas moleculares.(57)

La no absorción y asimilación del complejo de vitamina B afecta al nervio óptico, produciendo dificultades de visión. En fases avanzadas puede producir atrofia parcial de este nervio. Existe mayor riesgo en las personas de edad más avanzada y fumadoras que se produzca ceguera por cataratas y degeneración macular.

A nivel del oído pueden aparecer vértigos por afectación del sistema coclear. Aunque es necesario confirmarlo con otros estudios se ha detectado una asociación entre el hábito de fumar y la incapacidad, por el desarrollo de daños en la musculatura esquelética, especialmente daños en el menisco.(66)

### **1.3.2.3 Efectos tóxicos en fumadores pasivos**

Se considera fumador pasivo aquellas personas no fumadoras que están expuestas a los productos de combustión del tabaco en ambientes cerrados. El humo del tabaco ambiental proviene una parte del que es exhalado por el propio fumador, y otra parte del humo desprendido entre caladas. Su grado de contaminación va a depender del número de fumadores activos, de la intensidad de su humo, y del tamaño y ventilación de la habitación.(18)

Hasta hace dos décadas no se consideraba el efecto tóxico de la corriente lateral; en esto han influido bastante las compañías de las industrias tabaqueras que han manipulado y cuestionado el trabajo de profesionales, investigadores, técnicos y periodistas, así como importantes estudios hechos por organismos oficiales como el de la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer; hoy se sabe que esta toxicidad es tan importante como la de la corriente principal. La corriente lateral contiene numerosas sustancias citotóxicas: hidrocarburos aromáticos policíclicos, aminas aromáticas, nitrosaminas, metales pesados, gases venenosos, residuos pesticidas y elementos radioactivos, muchos de ellos en mayor cantidad que los encontrados en la corriente principal. Otros componentes, como la nicotina, el benzopireno, el Cd, etc también están en mayor concentración en la corriente secundaria. (18)(30)

En muchas empresas o lugares públicos cerrados se usan sistemas de limpieza de aire que son efectivos para retirar las partículas del aire, pero no tanto para eliminar los gases. Los marcadores que dan fe de la exposición de sujetos al humo del tabaco son la nicotina, y especialmente su metabolito la conitina, que puede aislarse de sangre, orina y saliva, y tiene una vida media en adultos de 15-40 horas, y de 37-160 horas en los niños. En los fumadores pasivos adultos las principales enfermedades relacionadas con esta exposición son cáncer (de pulmón y otras localizaciones), enfermedades cardiovasculares, asma bronquial, EPOC y síntomas respiratorios (agudos y crónicos).(57)

En el caso de mujeres embarazadas que sean fumadoras pasivas, los efectos sobre el feto y los riesgos del neonato son equiparables a los ya citados para los casos de mujeres embarazadas fumadoras activas. En los niños menores de 18 meses las consecuencias pueden ser más dramáticas, ya que su aparato respiratorio está inmaduro y no están suficientemente desarrollados los mecanismos de defensa de éste. Existe una relación causal entre la exposición al humo del tabaco durante la infancia y un incremento del riesgo de padecer enfermedades agudas del tracto respiratorio (laringotraqueítis, bronquitis, neumonía, asma, etc), síntomas respiratorios inespecíficos (tos, esputos, sibilancias, etc), enfermedades agudas otorrinolaringológicas (sinusitis, rinitis, otitis, etc), y mayor frecuencia de enfermedades tumorales. (18)

Algunos estudios indican que esta exposición durante la infancia puede favorecer el desarrollo de carcinomas primarios de pulmón en la edad adulta; también pueden aparecer diversos tipos de cáncer durante la infancia por la exposición intensa al humo del cigarro durante determinadas etapas del embarazo. (57)

Estudios realizados en Estados Unidos con niños entre 4 y 11 años, demostraron que tenían mayor riesgo de padecer caries dental si presentaban niveles altos de cotinina. Investigaciones anteriores ya han demostrado que la nicotina favorece el crecimiento de bacterias que pueden causar caries, por lo que los padres



fumadores que besan a sus hijos pueden estarle pasando estos gérmenes.(19)(66)

También en los fumadores pasivos es necesaria la monitorización de aquellos medicamentos cuya vía de metabolización coincida con la de algunos de los componentes presentes en el humo; hay estudios que claramente demuestran esta importancia, como es el caso de la administración de teofilina a la población infantil expuesta al humo del tabaco, y cuyo aclaramiento plasmático es significativamente más elevado con respecto a los no expuestos.(30)

Diferentes estudios han demostrado que la exposición al humo del tabaco ambiental induce un aumento del estrés oxidativo en los trabajadores, produciendo valores aumentados de varias enzimas antioxidantes (superóxidodismutasa, catalasa, glutatión reductasa y glutatión peroxidasa).(19)

#### **1.4 EXPERIMENTACIÓN BASADA EN ANIMALES**

La experimentación con animales o "experimentación in vivo" es el uso de animales no humanos en experimentos científicos; que permite descubrir: la curación de alguna enfermedad en muchos casos grave, saber por ejemplo cómo afectaría a los seres humanos la utilización de alguna sustancia con fines medicinales o cómo evolucionaría una enfermedad en circunstancias determinadas, etc.(2)(58)

Se calcula que cada año se utilizan entre 50 y 160 millones de animales vertebrados, e inclusive invertebrados; aunque una estimación realizada sobre el número de ratas y ratones usados en los Estados Unidos en el año 2009 lo situaba en 100 millones; la mayoría de animales son sacrificados después de usarlos en un experimento; el origen de los animales de laboratorio varía entre países y especies.(9)

El uso de animales en la investigación conlleva una obligación legal y un compromiso moral para salvaguardar su bienestar y causarles el menor sufrimiento posible, aspecto que, además, tiene un impacto en el éxito y confiabilidad de los experimentos. (2)(48)

Muchos estudios requieren numerosos sujetos experimentales para proveer conclusiones estadísticamente confiables; sin embargo, durante las últimas décadas, los científicos que usan animales de laboratorio han enfocado su atención en la reducción del uso de animales; varios investigadores han formulado pautas para el reemplazo o la reducción del uso de animales en la experimentación; bien conocido, por ejemplo, es el principio de las Tres Rs de Russell and Burch:(2)

#### 1.4.1 REEMPLAZO

Propone reemplazar, toda vez que sea posible, el uso de animales vivos en experimentación por otras alternativas viables o por animales menos ‘sentientes’. Grandes avances se han hecho en las últimas décadas en cuanto al reemplazo de muchos modelos animales o etapas experimentales por pruebas in Vitro, cultivos celulares y simulación por medio de modelos matemáticos, gracias al uso de la computación. (2)(25)

#### 1.4.2 REDUCCIÓN

Cada vez se pone mayor atención en usar el número mínimo de animales que permita la obtención de resultados significativos, basándose en criterios estadísticos y no arbitrarios o tradicionales. Es importante enfatizar el uso de antecedentes (como la variabilidad de un determinado parámetro) que permitan fijar o estimar criterios estadísticos (ej. número de réplicas), ya que reducir el n de un experimento en forma arbitraria sin un referente como este, podría hacer de todo el proceso un ejercicio inútil que terminaría finalmente desperdiciando animales y recursos, por no contar con el número mínimo necesario.(9)(25)

#### 1.4.3 REFINAMIENTO

Adecuar el protocolo de trabajo para minimizar potencial stress, dolor, sufrimiento o daño permanente que los animales puedan llegar a experimentar. Mejorar el bienestar animal, tanto durante el procedimiento como en el manejo diario. Es quizás el punto más importante, por su directa relación con los animales de experimentación y a la vez, extrañamente, el más difícil de implementar en muchos casos. Esto debido a que muchas veces impera larga una tradición o Status quo respecto a la forma de hacer los

procedimientos. Para los revisores de proyectos en comités de bioética es frecuente encontrar explicaciones como “es la forma que siempre se ha usado y funciona bien”, sin que exista ningún cuestionamiento por parte del investigador o su equipo, acerca de si sería posible mejorar el procedimiento, aún en pequeños detalles (ej. la forma de manipular a los sujetos), para bajar los niveles de miedo y stress en los animales. No se trata de reinventar modelos o empezar todo desde cero, como la palabra lo dice se trata de refinar lo que ya existe, tratando de mejorarlo. Ello implica siempre un ejercicio de humildad, de cuestionarse si lo que el grupo de investigación lleva haciendo por 10 años es realmente lo mejor. Quizás es eso lo que hace que esta R sea muchas veces la más difícil de implementar en forma cotidiana y, sin embargo, con frecuencia es la más efectiva y la más barata: no siempre es necesario hacer grandes inversiones para poner jaulas más grandes. Darles algo que hacer a los animales en su reducido espacio, puede ser mucho más efectivo en términos de su bienestar, ya que les posibilita realizar conductas para las que están altamente motivados (ej. sustrato de papel picado en jaulas de hamsters).(25)(49)

#### 1.4.4 RATÓN DE LABORATORIO

El ratón de laboratorio es un roedor, usualmente de la especie *Mus musculus*, que se utiliza para la investigación científica; su cariotipo está compuesto por 40 cromosomas y suelen ser albinos.(65)

Para cada experimento se escogen ratones de laboratorio que pertenezcan a una misma cepa pura o endogámica, ya que llevan los mismos genes, por lo cual se facilita la comparación de los efectos de los diferentes tratamientos experimentales (fármacos, entorno físico, etc.), sin que se produzca confusión debido a las diferencias genéticas. (67)

Las características que han hecho del ratón de laboratorio el modelo biológico y biomédico más utilizado en las investigaciones científicas son:

- Su fácil manejo.
- Su tamaño apropiado para la crianza y manipulación.
- No requieren demasiados cuidados.

- Tienen un sistema inmune similar al de los seres humanos.
- Tienen un alto número de crías.
- Poseen un breve período de gestación (19-21 días), y su destete es rápido.
- Las hembras producen un gran número de óvulos, los cuales al ser fecundados son muy resistentes.
- Al ser mamíferoseuterios, poseen un genoma muy similar al de los seres humanos.(2)

En la actualidad se utilizan ratones que se han manipulado genéticamente. Los modelos de ratón transgénico y *knock-out* son particularmente útiles para estudiar problemas biológicos complejos, ya que se puede analizar la acción de un gen o una proteína en particular.(2)(58)

#### **1.4.4.1 Cepa BALB/c**

Es la cepa más utilizada; se caracteriza por ser ratón albino, criado a partir del ratón casero de donde se derivan una serie de subcepas, actualmente, más de 200 generaciones desde su origen en Nueva York en 1920 se distribuyen a nivel mundial, y entre las cepas más utilizadas endocriadas en la experimentación animal.(65)

Son útiles para la investigación en cáncer e inmunología; las subcepas BALB/c son "especialmente conocida por la producción de plasmocitomas por inyección de aceite mineral," un proceso importante para la producción de anticuerpos monoclonales; también se ha reportado que tienen una "baja incidencia de tumor mamario, pero desarrollan otros tipos de cáncer en edad adulta, con mayor frecuencia neoplasias reticular, tumores de pulmón y tumores renales.

La mayoría de subcepas tienen una "larga vida útil reproductiva", se caracterizan por mostrar altos niveles de ansiedad y por ser relativamente resistentes a la arteriosclerosis inducida por dieta, haciendo de ellos un modelo útil para la investigación cardiovascular. (2)(67)

#### **1.4.5 VÍAS DE ADMINISTRACIÓN**

Las vías de administración y las dosis a emplear dependen en gran parte del animal que se trate y del fármaco a estudiar; así tenemos:

Enterales: Involucran tracto digestivo o sistema gastrointestinal: bucal u oral, sublingual y rectal.

Parenterales. No involucran tracto digestivo: Con efracción de epitelios (inyección):

- Sistémicas: intramuscular, intravenosa, subcutánea, intraósea, intraperitoneal.
- Locales: intradérmica, intraarterial, intracardiaca, intraraquídea o subaracnóidea.

Sin efracción de epitelios:

- Local y/o sistémica: Vía inhalatoria
- Local o tópica. Vía cutánea
- Local. Mucosas: ocular, uretral, nasal, bucal, vaginal, ótica.(58)

#### **1.4.5.1 Vía Enteral**

Utiliza la forma natural de absorción que es el intestino, aunque dichas sustancias no solo se ingieren por la boca, sino que se depositan directamente en otros tramos del intestino como el recto; la sustancia se suministra en el alimento, en el agua de bebida, o bien mediante la administración forzada utilizando una sonda.(2)(58)

#### **1.4.5.2 Vía Parenteral**

Esta vía implica la ruptura de las barreras del organismo, la piel y las mucosas para depositar las sustancias en tejidos o cavidades internas del organismo, como la abdominal; el método más común es la inyección con depósitos de sustancias dentro de la piel (vía intradérmica), o debajo de ella en el tejido subcutáneo (vía subcutánea) en los músculos (vía intramuscular), en venas (vía intravenosa), o en cavidades como la pleura (vía intrapleural) o peritoneal (vía intraperitoneal). (49)(67)

#### **1.4.6 EXTRACCIÓN DE SANGRE**

La sangre en los animales de experimentación se puede obtener de:

- En la cola
- Seno venoso retro-orbital
- Intracardiaca
- En el conejo en la vena o arteria de la oreja.(2)

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN**

La presente investigación se llevó a cabo en:

- El Bioterio de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Laboratorio de Química Forense de la Policía de Chimborazo.

### **2.2 MATERIAL, EQUIPOS Y REACTIVOS**

#### **2.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO**

##### **2.2.1.1 Población**

Diez ratones albinos *Mus musculus* cepa BALB/c, provenientes del Bioterio de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

##### **2.2.1.2 Clasificación científica**

- Reino: Animalia
- Filo: Chordata
- Clase: Mammalia
- Orden: Rodentia
- Familia: Muridae
- Subfamilia: Murinae
- Género: *Mus*

- Especie: *M. musculus*

#### **2.2.1.3 Descripción**

- Nomenclatura: Balb/c
- Peso Promedio: 25 – 40 gramos
- Edad: 2.5 - 3 meses.
- Sexo: Heterogéneo
- Lugar de Nacimiento: Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la
- Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### **2.2.1.4 Condiciones**

- Temperatura:  $22 \pm 3$  °C
- Humedad relativa: 30 % - 70 %
- Períodos de claridad y oscuridad: Ciclos de 12 horas
- Régimen alimenticio: 3 – 6 gramos, o 1,5 gramos por cada 10 gramos de peso corporal, por día.
- Consumo de agua: *ad libitum*

#### **2.2.1.5 Valores Referenciales**

- Glucemia Normal: 60 – 90 mg/dL (Charles River, 1984)
- Hiperglucemia:  $150 \pm 5$  mg/dL (Amarillis Saravia, 2005)
- Hemoglobina glicosilada normal:  $< 7$  (Amarillis Saravia, 2005)
- Hemoglobina glicosilada elevada:  $> 7$  (Amarillis Saravia, 2005)

### **2.2.2 MATERIA PRIMA**

#### **2.2.2.1 Nicotina**

La extracción de nicotina fue realizada en el Laboratorio de Química Forense de la Policía de Chimborazo, para lo cual se partió de las hojas de la planta del tabaco



*Nicotianatabacum* adquirida del Oriente ecuatoriano de la ciudad del Puyo, obteniéndose 3.2 g de cristales blanquecinos de nicotina

Las concentraciones de los fármacos a utilizar se determinaron mediante cálculo, considerando los pesos para cada uno de los animales pertenecientes a cada uno de los bloques de investigación.

### 2.2.3 EQUIPOS

- Balanza analítica
- Baño María
- Bomba de vacío
- Centrífuga
- Espectrofotómetro
- Estufa
- Refrigerador para conservación de reactivos

### 2.2.4 MATERIALES DE LABORATORIO Y OTROS

- Agitador
- Algodón
- Aro de soporte
- Balones aforados de: 25, 50 y 100 mL.
- Canastas para inclusión de muestras histológicas
- Embudo Buchner
- Embudo de vidrio
- Embudos
- Embudos de separación
- Envases oscuros estériles de vidrio de 50 mL de capacidad
- Equipo de disección
- Espátula
- Gradillas
- Jeringas de 5 mL.

- Kitasato
- Matraz elenmeyer
- Nuez
- Papel aluminio
- Papel filtrante analítico
- Picetas
- Pipetas automáticas de 100 µL marca HUMAN
- Placas cubre objetos de 32 x 24 mm
- Placas porta objetos biseladas de tamaño estándar
- Probeta de 50 y 100 mL
- Reverbero
- Soporte universal
- Tripodes
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación de: 25, 50 y 100 mL
- Material de escritorio

#### 2.2.5 REACTIVOS

- Agua destilada
- Bisulfito de sodio
- Etanol
- Éter de petróleo
- Metanol
- Parafina para inclusión de tejidos histológicos

### 2.3 METODOLOGÍA

#### 2.3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se determinó la influencia que posee la nicotina sobre los valores de hemoglobina glicosilada, mediante el uso de diez ratones *Mus musculus* cepa Balb/c los cuales fueron distribuidos al azar, previo una homogenización de quince días (Anexo No. 1), a continuación se esquematiza el diseño utilizado.

ACOPLAMIENTO Y				INDUCCIÓN DE			ADMINISTRACIÓN		DETERMINACIÓN DE	DETERMINACIÓN
DISTRIBUCIÓN DE GRUPOS				HIPERGLUCEMIA			DE NICOTINA POR			
							15 DÍAS			
Grupo	Tratamiento	N°	Sexo	Peso 12h	Administración	Determinar	DOSIS	DOSIS	GLUCOSA	HbA1c
		Ratón		G*	De Aloxano	Glucosa	BAJAS	ALTAS		
							175 mg/Kg			
1	Blanco	R1	Macho	30,7	--	5 min, 24 h, 48h	-	-	Día 15	15
2	Control con aloxano	R2	Hembra	30,2	0,4 mL ip	5 min, 24 h, 48h	-	-	1,4,7,15	15
		R3	Macho	30,6	0,4 mL ip	5 min, 24 h, 48h	-	-	1,4,7,15	15
		R4	Macho	30,4	0,4 mL ip	5 min, 24 h, 48h	-	-	1,4,7,15	15
3	Aloxano con nicotina en dosis bajas	R5	Hembra	30,7	0,4 mL ip	5 min, 24 h, 48h	0.5 mLvo	-	30 min, 2h,3,5,7,9,11,13,15	15
		R6	Macho	30,8	0,4 mL ip	5 min, 24 h, 48h	0.5 mL vo	-	30 min, 2 h, 3,5,7,9,11,13,15	15
		R7	Macho	30,7	0,4 mL ip	5 min, 24 h, 48h	0.5 mL vo	-	30 min, 2 h, 3,5,7,9,11,13,15	15
4	Aloxano con nicotina en dosis altas	R8	Hembra	30,5	0,4 mL ip	5 min, 24 h, 48h	-	0.5 mLvo	30 min, 2 h, 3,5,7,9,11,13,15	15
		R9	Macho	30,9	0,4 mL ip	5 min, 24 h, 48h	-	0.5 mL vo	30 min, 2 h, 3,5,7,9,11,13,15	15
		R10	Macho	30,9	0,4 m ip	5 min, 24 h, 48h	-	0.5 mL vo	30 min, 2 h, 3,5,7,9,11,13,15	15
				30,64						
G* Toma de glucosa en ayunas, ip Intraperitoneal, vo Vía Oral										

### 3.2FASE EXPERIMENTAL

#### 2.3.2.1 Obtención de Nicotina

- Se partió de 2,5 Kg de hojasde tabaco *Nicotianatabacum*, las mismas que fueron fragmentadas en pequeños trozos e inclusive pulverizadas como fue posible.
- Para la maceración se colocó toda la muestra enun recipiente y se adicionó alcohol etílicohasta cubrirlo completamente, por 15 días,
- Luego se filtró y el líquido verdoso resultantefue colocado en un embudo de separación con éter de petróleo.
- Se separa la fase orgánica y se llevaa evaporación y sequedad.
- Se coloca 5 mL de metanol y de 5 a 6 gr de bisulfito de sodio en el vaso de precipitación con la muestra sólida y se agita.
- Se lleva a sequedad nuevamente en la estufa durante 30 minutos a 60 °C.
- Se repite los dos últimos pasos ya mencionados hasta obtener una muestra totalmente Blanquecina.

- Al final se obtiene cristales de nicotina que se los aplasta para volverlos un polvo blanquecino y amargo.
- Para la determinación de la concentración de la nicotina extraída se realizó una cromatografía en el aparato Cromatógrafo de Gas – Líquido (Modelo: SRI 8100), obteniéndose de esta manera un alcaloide con pureza del 80% p/p.

#### **2.3.2.2 Inducción de Hiperglucemia en ratones**

Para la consecución de la hiperglucemia experimental por aloxano se administró a los animales el agente diabetógeno en dosis de 175 mg/Kg por vía intraperitoneal disuelto en tampón citrato sódico 0.05M ajustado a un pH 4.5 con HCl 1N

Tras su administración aparece una fase hipoglicémica, consecuentemente la liberación de insulina, secundaria a la destrucción inicial de las células beta, después de pocas horas aparecen los signos clínicos de la hiperglucemia, glucosuria, poliuria, polidipsia. Cuando se alcanzan niveles de glucosa en sangre superiores a  $150 \pm 5$  mg/dL se considera hiperglucemia química positiva.

#### **2.3.2.3 Determinación de Glucosa en sangre**

Este parámetro se evaluó como se describe a continuación:

- Al final de la etapa de adaptación previo a un ayuno de 12 horas; la misma que constituyó la glicemia basal normal.
- Cinco minutos luego de la administración de aloxano, luego a las 24 y finalmente a las 48 horas corroborando la hiperglucemia.
- Al grupo control con aloxano a las 24 horas, luego las dos primeras tomas cada tres días, si no existe variación significativa la última toma se realizará al final de la experimentación.
- A la media hora después de la primera administración de nicotina, luego a las 2 horas y finalmente se determinó la glucosa cada dos días, después de la administración del alcaloide.

La toma de sangre se llevó a cabo en la patada del animal (desde abajo hacia arriba) por medio de una aguja N° 30, previo a retirar los pelos que la cubren; el nivel de glucosa sanguínea se midió con las tiras reactivas en el glucómetro Accu-Chek active de Roche.

#### **2.3.2.4 Administración de nicotina**

Se administró vía oral 0,5 mL de nicotina a los grupos 3 y 4 en las concentraciones de 0.07g/Kg y 0.21 g/Kg respectivamente, durante 15 días.

Al ratón que conformó el grupo 1 no se le administró ninguna sustancia, se le mantuvo en condiciones normales de agua y comida, en cambio que al grupo 2 se realizó toma aleatoria de glucosa, para observar su comportamiento.

#### **2.3.2.6 Determinación de hemoglobina glicosilada**

Finalizado el período de observación se extrajo la sangre intracardiaca, para realizar la determinación de HbA1c, la misma que se coloca en un tubo con EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético), para posteriormente ser procesada, con la metodología TECO DIAGNOSTIC.

#### **2.3.2.7 Examen Anatomopatológico**

Una vez extraída la sangre del corazón del animal de experimentación se realizó el protocolo histológico de las superficies externas e internas del cuerpo.

#### **2.3.2.8 Análisis Estadístico**

Para el análisis estadístico, se usó un diseño completamente al azar, este consistió en la asignación de los tratamientos en forma completamente aleatoria, en donde la muestra fue homogenizada lo más posible (acoplamiento de pesos), utilizando para este propósito animales de la misma edad, similar estado fisiológico, parcelas de igual tamaño, disminuyendo de esta manera la magnitud del error experimental, ocasionado por la variación intrínseca de las unidades experimentales.

En la descripción del problema, se identificó:

Variable respuesta: Nivel de glucosa  
 Factor de interés: Influencia de los distintos niveles de nicotina.  
 Unidades experimentales: R ratones *Mus musculus* CEPA BALB/c  
 Modelo:  $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$

$\mu$ : es la media global, asociada con un parámetro desconocido  
 $\alpha_i$ : efecto debido al nivel de nicotina utilizado  
 $e_{ij}$ : error asociado a la observación  $Y_{ij}$

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu$$

$$H_1 = \mu_i \neq \mu_j \text{ para } i \neq j$$

Tabla No. 9 TABLA GENERAL DE ANÁLISIS DE VARIANZAS (ANOVA).

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	PRUEBA F
TRATAMIENTO	$SC_{TRAT} = \sum_{i=1}^k \frac{(Y_i)^2}{n_i} - \frac{(Y_{..})^2}{N}$	$k - 1$	$SC_T = \sum_{i=1}^k \frac{(Y_i)^2}{n_i} - \frac{(Y_{..})^2}{N} / k - 1$	$\frac{SC_T}{SC_E}$
ERROR	$SC_E = SC_T - SC_{TRAT}$	$N - k$	$SC_E = (SC_T - SC_{TRAT}) / N - k$	
TOTAL	$SC_T = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij})^2 - \frac{(Y_{..})^2}{N}$	$N - 1$		

$n$ : número de observaciones por tratamiento  
 $k$ : número de tratamientos  
 $N$ : número total de observaciones en el diseño  
 $Y_{ij}$ : observación  $j$  – ésim del tratamiento  $i$  – ésim  
 $Y_i$ : suma de las observaciones en el tratamiento  $i$   
 $\bar{Y}_i$ : promedio de las observaciones en el tratamiento  $i$   
 $Y_j$ : suma de las observaciones en la repetición  $j$   
 $\bar{Y}_j$ : promedio de las observaciones en la repetición  $j$   
 $Y$ : suma de todas las observaciones  
 $\bar{Y}$ : promedio de todas las observaciones

Como se detectaron diferencias significativas en el efecto de los tratamientos, se aplicó pruebas de comparación múltiple de medias, como la Prueba de Tukey al 5%:

$$T_\alpha = q_\alpha(k, N - k) S_{\bar{Y}_i}$$

Donde:

$$S_{\bar{Y}_i} = \sqrt{\frac{CME}{n}}$$

$n$  # de observaciones por tratamiento

$N-k$       *grados de libertad del error*

$\alpha$           *Nivel de significancia*

$q_{\alpha}(k, N - k)S_{\bar{Y}_L}$  *son los puntos porcentuales de la distribución de rango estudentizado*

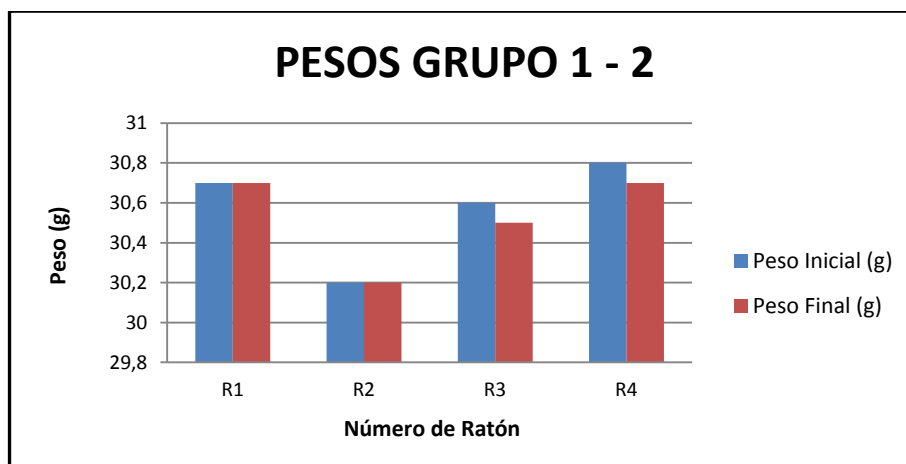
Además en forma general se utilizó, cuadros estadísticos, para poder apreciar los valores obtenidos en cada una de las etapas de experimentación.

### CAPÍTULO III

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**CUADRO No. 1 PESO CORPORAL INICIAL Y FINAL EN g DE LOS RATONES *Mus musculus*, DE LOS GRUPOS BLANCO Y CONTROL CON ALOXANO. BIOTERIO, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOCH, DICIEMBRE 2012.**

GRUPO	TRATAMIENTO	Nº RATÓN	SEXO	PESO INICIAL	PESO FINAL	DIFERENCIA DE PESOS
1	BLANCO	R1	Macho	30,7	30,7	0
		R2	Hembra	30,2	30,2	0
2	CONTROL CON ALOXANO	R3	Macho	30,6	30,5	0,1
		R4	Macho	30,8	30,7	0,1



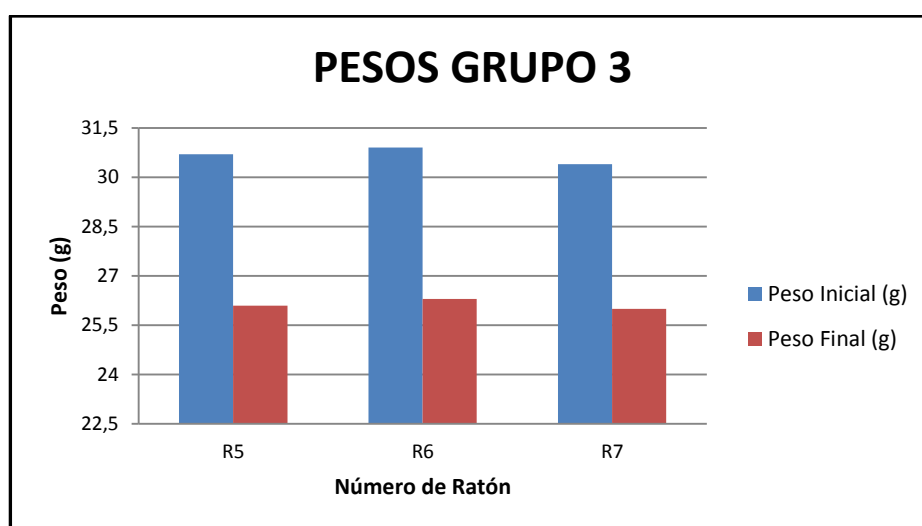
**GRÁFICO No. 1 PESO CORPORAL DEL GRUPO BLANCO Y GRUPO CONTROL CON ALOXANO**

Los ratones *Mus musculus* los cuales se les indujo hiperglucemia, no tuvieron cambios significativos en cuanto a su peso, lo mismo ocurrió con el ratón al cual no se le indujo ninguna enfermedad, en donde este hecho se corroboró mediante la utilización de un *t*-student igual a 1.73 y cuyo valor crítico a dos colas fue de 3.18, aceptando de esta manera la hipótesis nula (Anexo No. 2).



**CUADRO No. 2 PESO CORPORAL INICIAL Y FINAL EN g DE LOS RATONES *Mus musculus*, DEL GRUPO CON ALOXANO MÁS ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA EN DOSIS BAJAS. BIOTERIO, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOCH, DICIEMBRE 2012.**

GRUPO	TRATAMIENTO	N° RATÓN	SEXO	PESO INICIAL	PESO FINAL	DIFERENCIA DE PESOS
3	Aloxano con nicotina en dosis bajas	5	Hembra	30,7	26,1	4,6
		6	Macho	30,9	26,3	4,6
		7	Macho	30,4	26	4,4

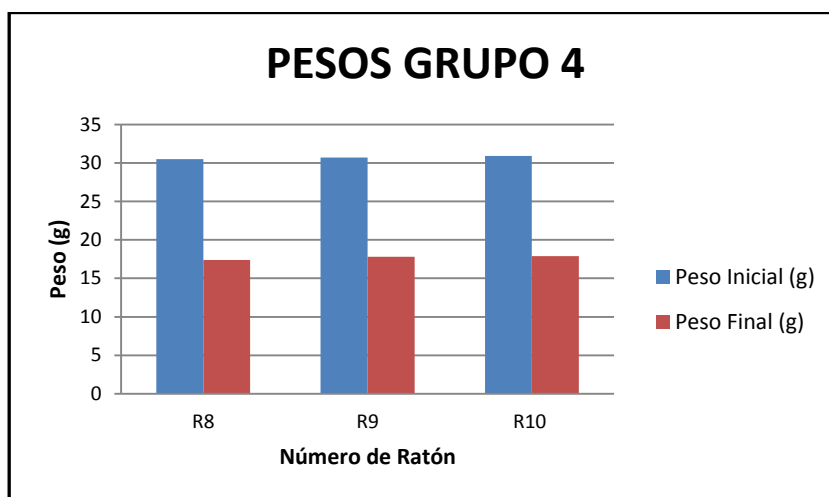


**GRÁFICO No. 2 PESO CORPORAL DEL GRUPO CON ALOXANO MÁS NICOTINA EN DOSIS BAJAS.**

Los datos expresados en este gráfico indican que existe una diferencia en el peso de los animales con hiperglucemia a los cuales se les administró nicotina en dosis bajas, para verificar si esta variación es significativa fue corroborado con un t estadístico el cual fue igual a 68, y cuyo valor crítico a una cola fue de 2.92, aquí se rechazó hipótesis nula y aceptó la hipótesis alternativa (Anexo No. 3)

**CUADRO No. 3 PESO CORPORAL INICIAL Y FINAL EN g DE LOS RATONES *Mus musculus*, DEL GRUPO CON ALOXANO MÁS ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA EN DOSIS ALTAS. BIOTERIO, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOCH, DICIEMBRE 2012.**

GRUPO	TRATAMIENTO	N° RATÓN	SEXO	PESO INICIAL	PESO FINAL	DIFERENCIA DE PESOS
4	Aloxano con nicotina en dosis altas	8	Hembra	30,5	17,4	13,1
		9	Macho	30,7	17,8	12,9
		10	Macho	30,9	17,9	13

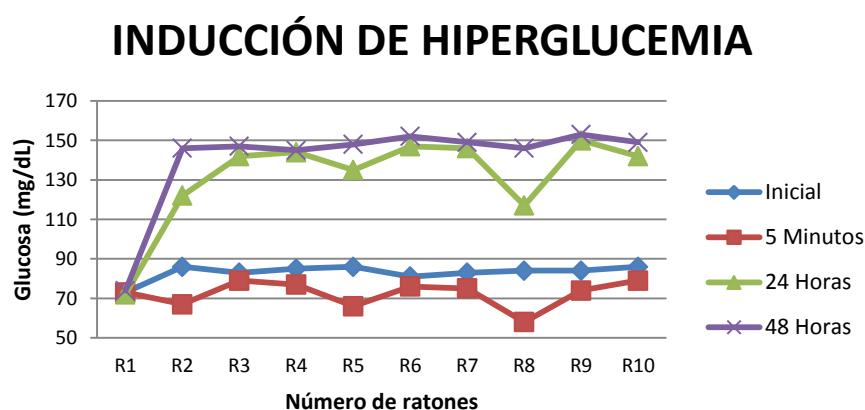


**GRÁFICO No. 3 PESO CORPORAL DEL GRUPO CON ALOXANO MÁS NICOTINA EN DOSIS ALTAS.**

Los datos expresados señalaron que los animales de este grupo disminuyeron de peso, el resultado de la variación fue muy significativo tanto como lo indica el gráfico así como los valores estadísticos  $t$  igual a 225.17, en donde el valor crítico a una  $\alpha$  fue de 2,92, rechazando de esta manera hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternativa (Anexo No.4)

**CUADRO NO. 4 VALORES DE GLUCOSA EN mg/dL DE LOS RATONES *Mus musculus* EN EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE LA HIPERGLUCEMIA BIOTERIO, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOH, DICIEMBRE 2012.**

Grupo	Tratamiento	INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA CON ALOXANO							
		N°	Sexo	Glucosa	5	24	48	Incremento de glucosa inicial-final (%)	Promedio de incremento de glucosa (%)
		Ratón		Inicial	Minutos	Horas	Horas		
1	Blanco	1	Macho	73	73	72	74	1,37%	1,37%
2	Control con Aloxano	2	Hembra	86	67	122	146	69,77%	72,49%
		3	Macho	83	79	142	147	77,11%	
		4	Macho	85	77	144	145	70,59%	
3	Aloxano con Nicotina dosis bajas	5	Hembra	86	66	135	148	72,09%	79,76%
		6	Macho	81	76	147	152	87,65%	
		7	Macho	83	75	146	149	79,52%	
4	Aloxano con Nicotina dosis altas	8	Hembra	84	58	117	146	73,81%	76,40%
		9	Macho	84	74	150	153	82,14%	
		10	Macho	86	79	142	149	73,26%	

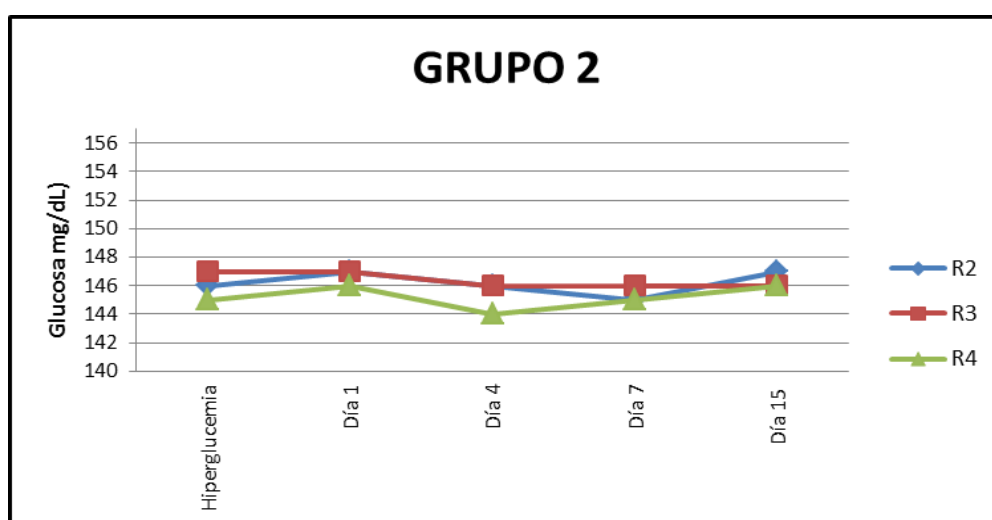


**GRÁFICO No. 4 VALORES DE GLICEMIA DURANTE EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE DIABETES**

A los 5 minutos de la administración del aloxano, se observó que los niveles de glucosa bajaron, debido a un rebote fisiológico, producto de la destrucción de las células pancreáticas, el mismo que fue mayor en las hembras que en los machos, cabe resaltar que este comportamiento fue solamente al inicio, puesto que a las 24 y 48 horas se dio la hiperglucemia en donde el sexo de los ratones no tuvo relevancia.

**CUADRO NO. 5 VALORES DE GLUCOSA EN mg/dL DE LOS RATONES *Mus musculus* DEL GRUPO CONTROL CON ALOXANO**  
BIOTERIO, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOH, DICIEMBRE 2012.

GRUPO	TRATAMIENTO	N° RATÓN	SEXO	HIPERGLUCEMIA	DÍA 1	DÍA 4	DÍA 7	DÍA 15
2	CONTROL CON ALOXANO	2	Hembra	146	147	146	145	147
		3	Macho	147	147	146	146	146
		4	Macho	145	146	144	145	146

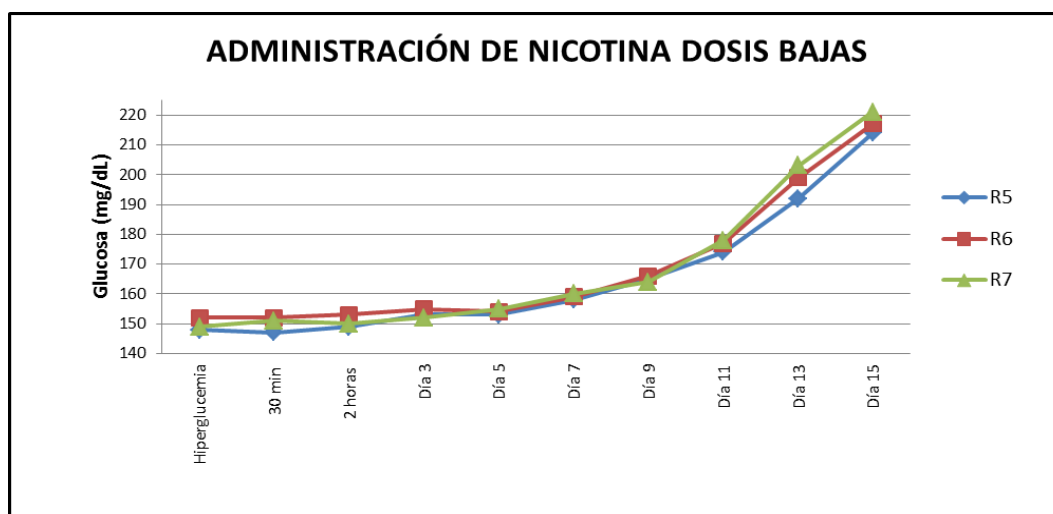


**GRÁFICO No. 5 GLICEMIA DEL GRUPO CONTROL CON ALOXANO**

Durante todo el tiempo de experimentación los valores de glucosa del grupo al cual solamente se le causo hiperglucemia se mantuvo dentro de los valores químicos positivos para este estado de  $150 \pm 5$  mg/dL, asícomo lo indica el análisis de varianza (Anexo No. 5), con un valor de probabilidad de 0,249 que acepta la hipótesis nula.

**CUADRO NO. 6 VALORES DE GLUCOSA EN mg/dL DE LOS RATONES *Mus musculus* DEL GRUPO ALOXANO CON ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA EN DOSIS BAJAS. BIOTERIO, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOH, DICIEMBRE 2012.**

GRUPO	TRATAMIENTO	N° RATÓN	Sexo	Hiperglucemia	30 MIN	2 HORAS	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
3	ALOXANO CON NICOTINA DOSIS BAJAS	R5	Hembra	148	147	149	153	153	158	165	174	192	214
		R6	Macho	152	152	153	155	154	159	166	177	199	217
		R7	Macho	149	151	150	152	155	160	164	178	203	221
		Media		150	149	150	153	154	159	165	176	198	217

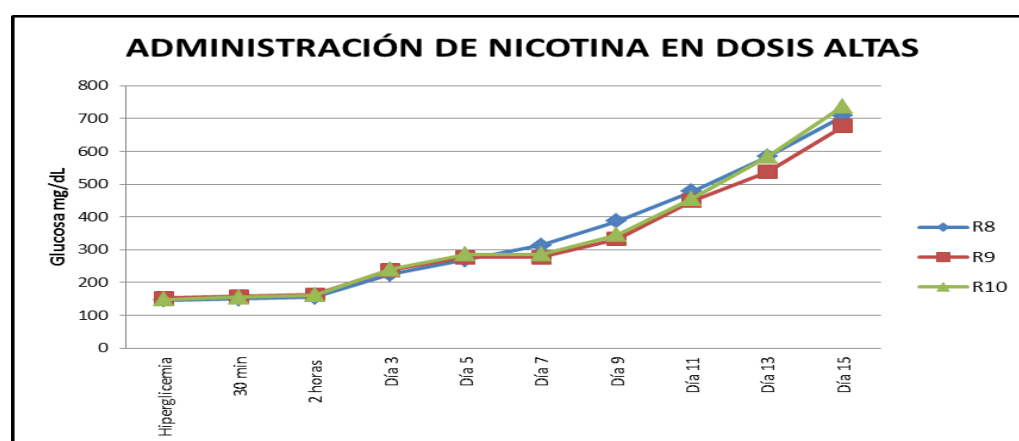


**GRÁFICO No. 6 GLICEMIA DEL GRUPO CON ALOXANO MÁS NICOTINA EN DOSIS BAJAS**

Tanto a los 30 minutos como a las dos horas de la administración de nicotina en dosis bajas, no hubo incremento de glucosa, a partir del tercer día de administración se observó aumentos, que incrementaban con el pasar de los días hasta llegar a una glucosa promedio de 217 mg/dL (Anexo No. 6), endonde este comportamiento fue similar tanto en la hembra como en los machos.

**CUADRO NO. 7 VALORES DE GLUCOSA EN mg/dL DE LOS RATONES *Mus musculus* DEL GRUPO ALOXANO CON ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA EN DOSIS ALTAS. BIOTERIO, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOH, DICIEMBRE 2012.**

GRUPO	TRATAMIENTO	N° RATÓN	SEXO	Hiperglucemia	30 MIN	2 HORAS	DÍA 3	DÍA 5	DÍA 7	DÍA 9	DÍA 11	DÍA 13	DÍA 15
4	ALOXANO CON NICOTINA DOSIS ALTAS	R8	Hembra	146	150	155	225	269	313	387	478	584*	708*
		R9	Macho	153	158	163	238	277	277	333	449	537	677*
		R10	Macho	149	155	161	241	286	286	346	456	584	738*
		Media		149	157	162	235	277	292	355	461	568	707*
*Valores obtenidos mediante regresión lineal (Anexo No. 7)													

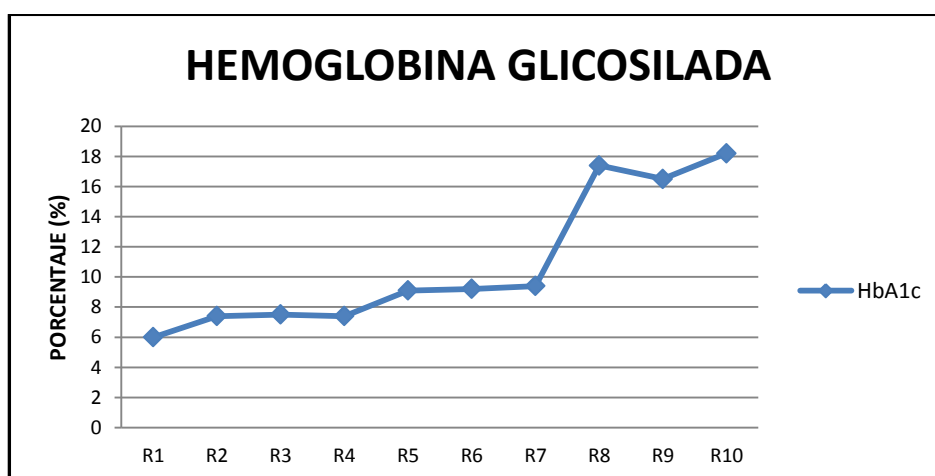


**GRÁFICO No. 7 GLICEMIA DEL GRUPO CON ALOXANO MÁS NICOTINA EN DOSIS ALTAS**

El aumento del nivel de glucosa fue considerable durante toda la experimentación, es así que en los primeros treinta minutos de la aplicación del alcaloide la glucemia promedio ya fue de 157 mg/dL; al tercer día se observó una glucosa elevada cuyo promedio fue de 568 mg/dL, y al final estos valores fueron mayores a 600 mg/dL, los mismos que no pudieron ser medidos por el aparato de accu-check por lo que se realizó una regresión lineal (Anexo No. 7); aquí hubo la muerte del macho 10

**CUADRO NO. 8 VALORES DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA DE LOS RATONES *Mus musculus*, BIOTERIO, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOH, DICIEMBRE 2012.**

GRUPO	TRATAMIENTO	N° RATÓN	SEXO	HbA1c (%)	MEDIA	REFERENCIA RESPECTO AL BLANCO
1	Blanco	1	Macho	6	6	0%
2	Control con Aloxano	2	Hembra	7,4	7,43	23,83
		3	Macho	7,5		
		4	Macho	7,4		
3	Aloxano Nicotina dosis baja	5	Hembra	9,1	9,23	53,83
		6	Macho	9,2		
		7	Macho	9,4		
4	Aloxano Nicotina dosis altas	8	Hembra	17,4	17,37	189,5
		9	Macho	16,5		
		10	Macho	18,2		



**GRÁFICO No. 8 RESULTADOS DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA**

El Gráfico No. 8, presenta el incremento de hemoglobina glicosilada, los grupos a los cuales se les administró mayor cantidad de nicotina, tienen mayor cantidad de HbA1c.

**CUADRO NO. 9 ANALISIS DE VARIANZA PARA LA COMPARACIÓN DE LA MEDIA DE LOS VALORES DE GLUCOSA DETODOS LOS GRUPOS AL FINAL DEL EXPERIMENTO**

<b>NIVEL DE GLUCOSA (mg/dL) AL DIA 15</b>				
	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>	<b>G1</b>
Hembra	147	214	707	74
Macho	146	217	676	74*
Macho	146	221	737	74*
*Valores añadidos (Anexo No. 9)				

<b>TABLA ANOVA</b>						
<b>Fuente de variación</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Prueba F</b>	<b>Valor crítico</b>	<b>Valor p</b>
Grupos	738378,92	3	246126,306	1044,01402	4,066	1,036 <sup>-10</sup>
Error	1886	8	235,75			
<b>Total</b>	<b>740264,92</b>	<b>11</b>				

Mediante el análisis de varianzas, podemos observar, que el valor del estadístico de prueba igual a 1044,014, fue mucho mayor que el valor crítico de 4,066, por lo que se procede a rechazar hipótesis nula (Anexo No. 9), mostrando de esta manera una variación significativa entre los grupos con respecto a los niveles de glucosa, además el valor de p (1,036E-10) es menor que el nivel de significancia (0,05), afirmando lo anteriormente dicho.



**CUADRO NO. 10 VALOR CRÍTICO PARA COMPARAR LAS DIFERENCIAS ENTRE LAS MEDIAS DE LOS GRUPOS AL FINAL DE LA EXPERIMENTACIÓN.**

$$T_{\alpha} = q_{\alpha(4;8)} * S_{\bar{Y}_i}$$

$$T_{\alpha} = 4,56 * 8,86$$

$$T_{\alpha} = 40,42$$

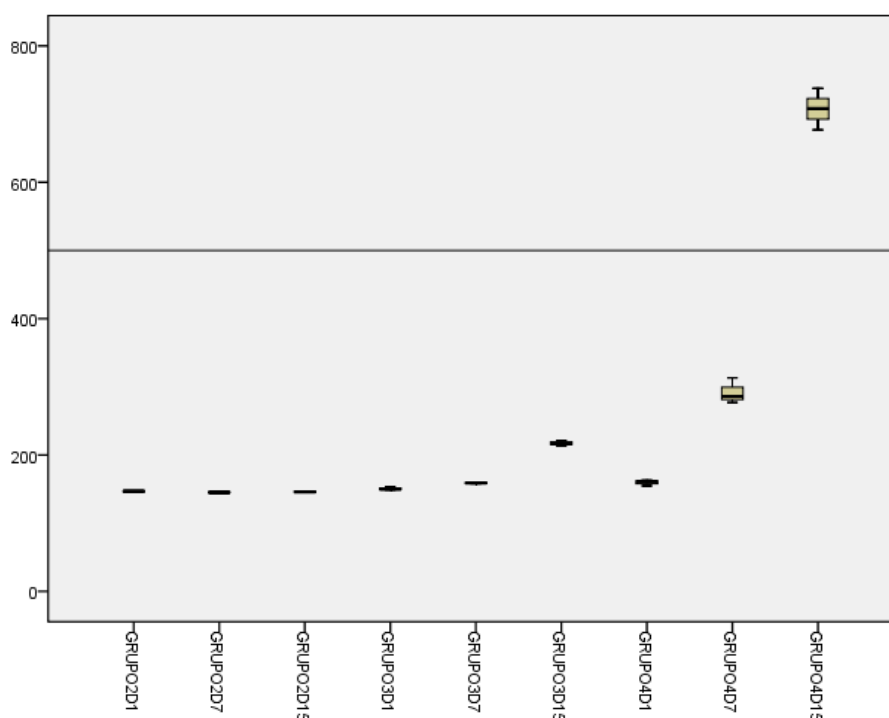
GRUPO	TRATAMIENTO	MEDIA DEL DÍA 15
1	Blanco	74
2	Control con aloxano	146,3
3	Aloxano con Nicotina dosis bajas	217,3
4	Aloxano con Nicotina dosis altas	706,7

PRUEBA DE TUKEY					
GRUPO	°N	Subconjunto			
		1	2	3	4
1	3	74,0000			
2	3		146,3333		
3	3			217,3333	
4	3				706,6667
<b>Sig.</b>		<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>

Al aplicar la prueba de Tukey se observó que existieron cuatro subconjuntos en los cuales se encontraron cada una de las medias de los grupos que se tomaron en cuenta para la experimentación, en donde la media de glucosa del grupo 1, fue menor a todos, es decir, el grupo control, tuvieron menor nivel de glucosa, en contraposición con este comportamiento se apreció que al final del proceso de experimentación (15 días) el nivel de glicemiade los demás grupos aumentó en forma proporcional al nivel de nicotina, es decir, a mayor nivel de nicotina, mayor nivel de glucosa.

**CUADRO NO. 11 VALORES DE GLUCOSA EN mg/dL DE LOS RATONES *Mus usculus* DE LOS GRUPO 2, 3 Y 4 EN DIFERENTES TIEMPOS ESPECÍFICOS**

SOLO ALOXANO			NICOTINA BAJA			NICOTINA ALTA		
Día 1	Día 7	Día 15	2 horas	Día 7	Día 15	2 H	Día 7	Día 15
147	145	147	149	158	214	155	313	708
147	146	146	153	159	217	163	277	677
146	145	146	150	160	221	161	286	738



**GRÁFICO No. 9 DIAGRAMA DE CAJA Y BIGOTES PARA LOS GRUPO 2, 3 Y 4 EN DIFERENTES TIEMPOS ESPECÍFICOS**

En los primeros tiempos considerados, se observó la presencia de valores pequeños del nivel de glucosa, siendo su incremento proporcional al aumento del nivel de nicotina; al séptimo día, los grupos 2 y 3 permanecieron con valores de glucemia bajos, menores a 165 mg/dL, en cambio el grupo 4 presentó un aumento significativo; finalmente en el día 15, es notorio el aumento del nivel de glucosa, siendo este proporcional al nivel de nicotina y los días transcurridos este hecho tuvo mayor relevancia en el grupo 4.

**CUADRO NO. 12 PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE LOS RATONES *Mus musculus*.  
BIOTERIO, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE CIENCIAS,  
ESPOCH, DICIEMBRE 2012.**

Para este análisis se tomó en consideración los órganos internos que pudieron presentar algún deterioro por defecto de la administración de la nicotina, dichos órganos fueron: páncreas, hígado y riñón.

GRUPO	CÓDIGO	EXAMEN MACROSCÓPICO			EXAMEN MICROSCÓPICO		
		PÁNCREAS	HÍGADO	RIÑÓN	PÁNCREAS	HÍGADO	RIÑÓN
Blanco	R1	1,6x0,5x0,3	2,0x1,3x1,25	1,1x0,6x0,45	Color amarillento Estructura histológica normal	Color rojo vinoso Arquitectura normal	Color rojizo Normal
Control con aloxano	R2	1,2x0,35x0,25	1,8x1,4x1,2	1,0x0,7x0,5	Destrucción en 50% de los Islotes de Langerhans	Estructura histológica Normal	Estructura histológica Normal
	R3	1,3x0,4x0,2	1,9x1,45x1,3	1,1x0,6x0,45			
	R4	1,4x0,4x0,3	1,9x1,3x1,2	1,0x0,7x0,5			
Aloxano con nicotina en dosis bajas	R5	1,0x0,25x0,15	2,2x1,5x1,2	1,1x0,6x0,45	Destrucción en 90% de los Islotes de Langerhans	Estructura histológica Normal	Estructura histológica Normal
	R6	1,1x0,3x0,3	2,3x1,45x1,3	1,0x0,7x0,5			
	R7	1,0x0,4x0,35	2,1x1,35x1,2	1,0x0,6x0,45			
Aloxano con nicotina en dosis bajas	R8	0,5x0,2x0,15	2,7x1,6x1,4	0,8x0,6x0,4	Destrucción en 100% de los Islotes de Langerhans	Estructura histológica Normal	Presencia de daño tubular en 20%
	R9	0,9x0,4x0,3	2,4x1,5x1,2	0,7x0,4x0,35			
	R10	1,0x0,3x0,2	2,6x1,45x1,3	0,6x0,3x0,25			

Macroscópicamente el páncreas presentó: un notable atrofia menor, un ligero endurecimiento y pequeñas ulceraciones; los riñones mostraron cierta deformación y presencia de gránulos en la superficie, finalmente el hígado se edematizó en relación a un 4% de sus medidas iniciales; también se evidenció sangrado interno en la mayoría de los animales, de manera general mientras mayor fue el nivel de nicotina mayor eran los daños mencionados anteriormente.

Dr. Oswaldo Duque  
**MÉDICO PATÓLOGO**  
**CAPÍTULO VI**

#### **4. CONCLUSIONES**

1. Después de la administración de aloxana a los ratones *Mus musculus*, los niveles de glucosa aumentaron en un 73%; al grupo blanco al cual no se le indujo ninguna patología apenas incrementó el 1%, producto de alguna estimulación externa, pero que no influye significativamente en la experimentación. (Cuadro No. 4).
2. La nicotina influye directamente sobre los niveles de glucosa, al término de la experimentación las variaciones son significativas, en donde los valores medios resultantes fueron de 217 mg/dL y 707 mg/dL, para la dosis baja y alta respectivamente. (Cuadros No. 6, 7, 9, 10).
3. La hemoglobina glicosilada es directamente proporcional al nivel de nicotina, aquellos ratones *Mus musculus* los cuales se les administró pequeñas cantidades de nicotina tuvieron un aumento del 54% en cambio que a mayor concentración de este alcaloide el porcentaje incrementó en un 189% (Cuadro No. 8)
4. El daño tanto macroscópico como histológico del páncreas, causado por la nicotina incrementa, según la concentración del alcaloide en el cuerpo de los ratones *Mus musculus*, es así que en niveles altos hay una desorganización y destrucción total del mismo, el riñón en esta etapa presenta un 20% de daño tubular; el hígado de forma general se encuentra ligeramente edematizado (Cuadros No. 12)

5. Mientras mayor es el grado de nicotina en el organismo de los ratones *Mus musculus*, el peso disminuye significativamente, en el caso de los grupos blanco y control de aloxano esta variación no es relevante (Cuadros No. 1, 2, 3)

## **CAPÍTULO V**

### **5. RECOMENDACIONES**

1. Tras la administración del agente diabetológico ocurre un rebote fisiológico, por lo que para confirmar la hiperglucemia se deberá esperar mínimo un día para efectuar la siguiente toma de glucosa y corroborar dicho estado.
2. Difundir la información del presente trabajo de investigación y concientizar al paciente diabético fumador que este hábito incrementa los valores de glucosa y hemoglobina glicosilada.

## CAPÍTULO VI

### 6. RESUMEN

La determinación de la influencia que posee la nicotina sobre los valores de hemoglobina glicosilada, mediante el uso de ratones *Mus musculus* cepa BALB/c, con hiperglucemia inducida por aloxano, fue realizada en el Bioterio, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Se estableció cuatro grupos de experimentación, a tres de los cuales se les produjo diabetes con la administración intraperitoneal de aloxano (175mg/Kg), a dos de estos se les administró nicotina: 0.04 g/Kg y 0.20 g/Kg, por quince días y se determinó la glicemia por medio de Accu-chek. Se realizó la extracción intracardiaca, para la determinación de hemoglobina glicosilada; finalmente el estudio macroscópico e histopatológico mostró daños importantes en el páncreas y riñones.

Para la evaluación de los datos obtenidos se utilizaron los análisis estadísticos: Anova, T-student y Tukey, mediante los cuales se confirmó que el nivel de nicotina es directamente proporcional al nivel de glucosa y esta a su vez a la hemoglobina glicosilada, tal como lo refleja los valores medios resultantes de HbA1c iguales a: Grupo blanco 6%, grupo control con aloxano 7.43%, grupo de aloxano con nicotina en dosis bajas 9.23% y el grupo de aloxano con nicotina en dosis altas de 17.37%

Esta investigación pretende concientizar al paciente diabético fumador para que haga todo lo posible por dejar de fumar, y así mejorar su calidad de vida.

## **ABSTRACT**

This research to determine the influence of the nicotine over the values of glycosylated hemoglobin, using mice *Mus musculus* BALB/c with hyperglycemia induced by alloxan, was performed in the Biotery, School of Biochemistry and Pharmacy, Polytechnic School of Chimborazo.

I was established four experimental groups three of which diabetes was caused by intraperitoneal administration of alloxan (175 mg/Kg), two of these were administered nicotine: 0.04 g/Kg and 0.20 g/Kg, by fifteen days and was determined glycemia by Accucheck.

Intracardiac extraction was performed for the determination of glycosylated hemoglobin and finally the macroscopic and histopathological study showed significant damage to the pancreas, liver and kidneys.

For the evaluation of the obtained data using the statistical analysis: which was confirmed by nicotine level is.

For the evaluation of the data obtained were used statistical analysis: Anova, T student, Tukey, where by it was confirmed that the level of nicotine is directly proportional to the glucose level and this in turn to the glycosylated hemoglobin, as reflected in the resulting average values equal HbA1c to: group white 6%, control group 7.43% alloxan, alloxan group of low-dose nicotine 9.23% and alloxan group with high doses of nicotine in 17.37%.

Nicotine has a direct impact on glycated hemoglobin levels, the higher the concentration of alkaloid, the damage is greater. We recommend further studies of this alkaloid in human beings and smoking awareness for diabetic patients to do everything possible to stop smoking, and improve their quality of life.

## **CAPÍTULO VII**

### **7. BIBLIOGRAFÍA**

**1.-ALPIZAR, M.,** Guía para el manejo integral del paciente diabético.,  
México DF-México., Manual Moderno., 2001.,  
Pp 1-165.

**2.-AMARILLIS, S.,** Manual de ensayos toxicológicos y farmacológicos  
experimentales IN VIVO E INVITRO., Guatemala–  
Guatemala., Universitaria., 2005., Pp 1-36, 544-547.

**3.-ARCE, V., y otros.,** Endocrinología., Madrid-España., Universidad  
de Vigo., 2006., Pp 11-17.

**4.-CABALLERO, F.,** Las drogas Educación y Prevención., Madrid–  
España., Cultural., 2004., Pp 12 – 14.

**5.-DOMINGUEZ, J.,** FERRI Consultor Clínico Diagnóstico y  
Tratamiento en Medicina Interna., 1a.ed., Madrid-España.,  
Océano., 2001., Pp 35 – 44.



- 6.-FARRERAS, R.,** Medicina Interna., 14a.ed., Madrid-España., SEVIER., 2000., Pp 38 -41.
- 7.-FASTER, C., y otros.,** Manual de Terapéutica Médica., 33a.ed., Washington – Estados Unidos., WoltersKlower., 2008., Pp 24-33.
- 8.-FIGUEROLA, D.,** Diabetes Mellitus – Guía para su conocimiento y control., Barcelona-España., SALVAT., 1988., Pp 64–72
- 9.-FINA, Q.,** Manuel de técnicas de investigación., Habana-Cuba., PIA., Pp 173-181.
- 10.-GILL, G.,y otros.,** Cecil tratado de Medicina Interna., 20a.ed., México DF- México., Mc Graw Hill Interamaericana., 1997., Pp 32-44.
- 11.-IRWIN, R., y otros** Medicina Intensiva., 1a.ed., Madrid-España., Marbán Libros., 2007., Pp 44-57.
- 12.-KOOLMAN, J.,** Bioquímica., 3a.ed., Argentina – Buenos Aires., Médica Panamericana., 2004., Pp 73-89.
- 13.-LERMAN, I.,** Atención Integral del Paciente Diabético., 2a.ed., Madrid-España., Graw Hill., 2004., Pp 3-118.

**14.-MAGRI, B.,** Diabetes de la A a la Z., Barcelona-España., Paidós Ibérica., 2004., Pp 87-97

**15.-PALLARDO, L.,** Endocrinología Clínica., 2a.ed., Madrid-España., Díaz de Santos., 2010., Pp 77-87

**16.-RODRIGUEZ, L.,** AMIR medicina., Madrid-España., Marbán Libros., 2010., Pp 14-38.

**17.-RODRIGUEZ, L.,** Green Book Diagnóstico y Tratamiento Médico Madrid-España., Marbán Libros., 2010., Pp 226-233.

## **COMUNICADOS**

**18.-ESTADOS UNIDOS DE AMERICA, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.,** El control de las enfermedades transmisibles., Washintong, D.C-Estados Unidos., 17a.ed., Estados Unidos., OMS 2001., Pp 3-5.

**19.-ESTADOS UNIDOS DE AMERICA, ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD.,** Tabaquismo una amenaza constante para la salud., 23a.ed. Washintong, D.C-Estados Unidos., OPS., Estados Unidos., 1997., Pp 1-7.

## TESIS

**20.-CARRILLO, P.**, Efecto hipoglucemiante del zumo del fruto de noni (*Morindacitrifolia*), en ratas (*Rattusnovergicus*) con hiperglicemia inducida., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba-Ecuador., ESPOCH., **TESIS.**, 2011., Pp 76-96.

**21.-GARCÍA, J.**, Evaluación de la calidad de vida en los pacientes con Diabetes Mellitus tipo 1., Hospital Universitario Ntra. Sra. de Candelaria de Tenerife., Canarias-España., HUNSCT., **TESIS.**, 2006., 73-184.

**22.-ROSERO, M.**, Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de canela (*CinnamomumZeylanicum*), en ratas (*Rattus novergicus*) con hiperglicemia inducida., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba-Ecuador., ESPOCH., **TESIS.**, 2010., Pp 39-93.

**23.-VIZCAINO, F.**, Evaluación del tratamiento combinado de glibenclamida y acarbosa comparada con glibenclamida y metformina en el control glucémico del paciente con diabetes mellitus tipo 2., Facultad de Medicina., Universidad de Colima., Colima-México., UNC., **TESIS.**, 2008., Pp 5-11.

**INTERNET**

**24.-ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DEL PÁNCREAS.**

[http://diabetesvida.blogspot.com/2010\\_01\\_01\\_archive.html](http://diabetesvida.blogspot.com/2010_01_01_archive.html)

2012/04/01

**25.-ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**

<http://www.fileden.com/filesANIMALES.pdf>

2012/04/01

**26.-ATLAS DE DIABETES.**

<http://www.atlasdiabetes.com/valid.htm>

2012/04/01

**27.-CARACTERIZACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS.**

[http://bvs.sld.cu/revistas/mgi/vol19\\_4\\_03/mgi04403.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/mgi/vol19_4_03/mgi04403.htm)

2012/04/01

**28.-COMPLICACIONES AGUDAS - DIABETES MELLITUS.**

<http://med.puc.cl/ntegradotercero/ComplicacionesAgudas.pdf>

2012/04/01

**29.-COMPLICACIONES CRÓNICAS - DIABETES MELLITUS.**

<http://pfisiopsist/nutricion/ComplicacionesCronicas.pdf>

2012/04/01

**30.-COMPONENTES DE UN CIGARRO.**

<http://BFque-componentes-tiene-un-cigarro-de-tabaco>

2012/07/11

**31.-DIABETES.**

<http://www.asdico.es/uploads/pdf/introduccion.pdf>

2012/07/11

**32.-DIABETES.**

<http://www.nlm.nih.gov/ency/article/001214.html>

2012/07/11

**33.-DIABETES.**

[http://www.hospitaldenens.com/docs/diabetes\\_cas.pdf](http://www.hospitaldenens.com/docs/diabetes_cas.pdf)

2012/07/11

**34.-DIABETES.**

<http://www.atlasdiabetes.com/valid.htm>

2012/07/11

**35.-DIABETES.**

<http://www.uned.es/enfermedades/diabetes/manual/htm>

2012/07/11

**36.-DIABETES DEFINICIONES.**

[http://www.diabetes/definicion\\_%20diabetes.pdf](http://www.diabetes/definicion_%20diabetes.pdf)

2012/07/11

**37.-DIABETES E INSULINA.**

<http://www.diabetes.org/espanol/afecciones-y-tratamiento.htm>

2012/07/11

**38.-DIABETES MELLITUS.**

[www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html)

2012/08/10

**39.-DIABETES MELLITUS.**

<http://escuela.med.puc.cl/DiabetesMellitus.pdf>

2012/08/10

**40.-DIABETES MELLITUS.**

<http://fileadmin/PDF/PROTOCOLOS/diabetes.pdf>

2012/08/10

**41.-DIABETES MELLITUS**

<http://www.slideshare.net/diabetes-mellitus-2557733>

2012/08/10

**42.-DIABETES MELLITUS.**

<http://www.net/redclinica/diabetes-mellitus-2010VCVV>

2012/08/10

**43.-DIABETES PROTOCOLOS.**

[http://www.systranlin.com/metabolic\\_health/diabetes\\_01.htm](http://www.systranlin.com/metabolic_health/diabetes_01.htm)

2012/08/10

**44.-DIABETES SIN TRATAMIENTO.**

<http://www.hoy.com.ec/tratamiento-248844-248844.html>

2012/08/10

**45.-EPIDEMIOLOGÍA DE LA DIABETES.**

[http://www.sld.cu/pdf/uvs/pataclinica/dbetes1\\_2009.pdf](http://www.sld.cu/pdf/uvs/pataclinica/dbetes1_2009.pdf)

2012/09/07

**46.-ECUADOR.**

<http://www.enteratecuador.com/main.php?idSeccion=41613>

2012/09/07

**47.-ECUADOR CON DIABETES**

<http://www.elmercurio.com.ecl-ecuador-padece-diabetes.html>

2012/09/07

**48.-EXPERIMENTACIÓN ANIMAL**

<http://www.conicyt.cl/documentos/bioetica19nov.pdf>

2012/09/07

**49.-EXPERIMENTACIÓN EN ANIMALES.**

[www.enbuenasmanos.com/articulos/muestra.asp?art=550](http://www.enbuenasmanos.com/articulos/muestra.asp?art=550)

2012/09/07

**50.-GUÍAS ALAD**

[http://revistaalad.com.ar/guias/GuiasALAD\\_DMTipo2\\_v3.pdf](http://revistaalad.com.ar/guias/GuiasALAD_DMTipo2_v3.pdf)

2012/08/10

**51.-HEMOGLOBINA GLICOSILADA.**

<http://www.clinidiabet.com/files/hgbat2es.pdf>

2012/08/10

**52.-HEMOGLOBINA GLICOSILADA.**

<http://dpress.com/2009/02/04/1a-hemoglobina-glicosilada>

2012/08/10

**53.-INSULINA.**

<http://articulosdemedicina.com/insulina>

2012/07/11

**54.-INSULINA.**

<http://www.org/espanol/diabetes/acerca-de-la-insulina.html>

2012/07/11



**55.-INSULINA.**

<http://themedicalbiochemistrypage.org/spanish/insulin-sp.html>

2012/07/11

**56.-INDICADORES DE CONTROL METABÓLICO**

<http://ris.bvsalud.org/finals/Ecu1510.pdf>

2012/09/07

**57.-LA NICOTINA Y COMPLICACIONES DE LA DIABETES.**

<http://www.jano.es/nicotina/complicaciones/diabetesa-1>

2012/09/07

**58.-MANEJO DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**

[http://acbiol/docencia/lineamientos/manejo\\_animales.pdf](http://acbiol/docencia/lineamientos/manejo_animales.pdf)

2012/09/07

**59.-MITOS REALIDAD HEMOGLOBINA GLICOSILADA.**

[http://www.ax/download/med%20interna/jun2009/MI3\\_8.pdf](http://www.ax/download/med%20interna/jun2009/MI3_8.pdf)

2012/08/10

**60.-MUERTOS A DIARIO POR EL TABACO.**

[http://www.lahora.com.ec/index.php/el\\_tabaco.html](http://www.lahora.com.ec/index.php/el_tabaco.html)

2012/08/10

**61.-NICOTINA Y DIABETES, COMBINACIÓN PELIGROSA.**

<http://www.es/murcia/v/20110601/nicotina-diabeteshtml>

2012/09/07

**62.-PÁNCREAS.**

[http://diabetesvida.blogspot.com/2010\\_01\\_01\\_archive.html](http://diabetesvida.blogspot.com/2010_01_01_archive.html)

2012/09/07

**63.-PREVENCIÓN DE COMPLICACIONES**

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17488145>

22012/09/07

**64.-QUÍMICA CLÍNICA.**

<http://es.scribd.com/doc//HEMOGLOBINA-GLUCOSILADA>

2012/09/07

**65.-RATONES DE EXPERIMENTACIÓN.**

<http://caebis.cnea.gov.ar/aplicaciones/bioterio/ratones.htm>

2012/09/07

**66.-TABACO SALUD VS. MUERTE.**

<http://www.elcomercio.com/editorial/500950038.html>

2012/04/01

**67.-TRABAJO CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**

[http://www.insht.es/InshtWeb/401a500/ntp\\_468.pdf](http://www.insht.es/InshtWeb/401a500/ntp_468.pdf)

2012/09/07

## CAPÍTULO VIII

## 8. ANEXOS

**ANEXO No. 1 PERIODO DE ADAPTACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE PESOS DE LOS RATONES**  
*Mus musculus*  
BIOTERIO, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, FACULTAD DE CIENCIAS,  
ESPOCH, DICIEMBRE 2012.

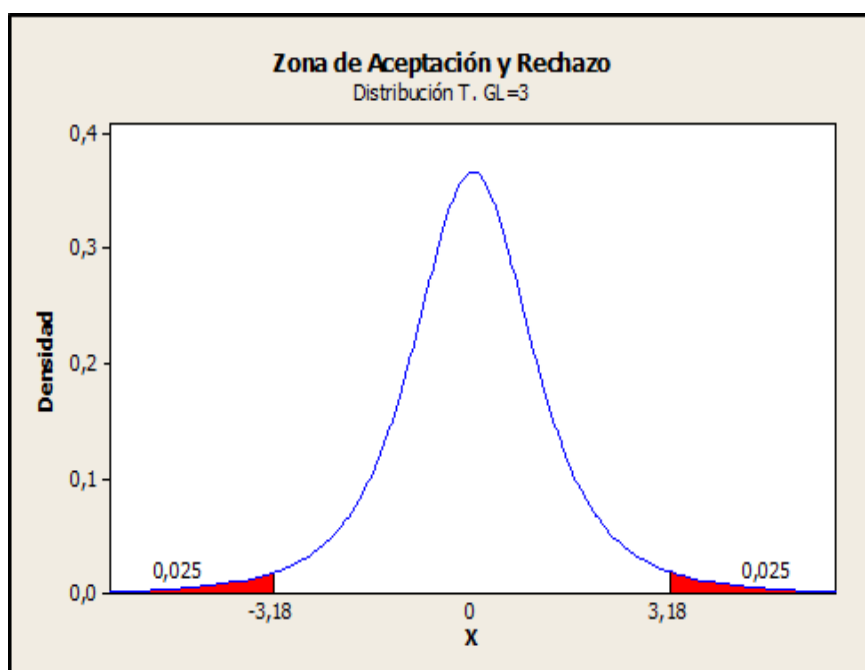
[illegible]

**ANEXO No. 2 COMPARACIÓN DE PESOS DE LOS GRUPOS BLANCO Y CONTROL CON ALOXANO, EN ZONA DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO A DOS COLAS.**

$H_0$ : peso inicial = peso final

$H_1$ : peso inicial  $\neq$  peso final

	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)
Media	30,58	30,53
Estadístico t		1,73
P(T<=t) dos colas		0,18
Valor crítico de t (dos colas)		3,18

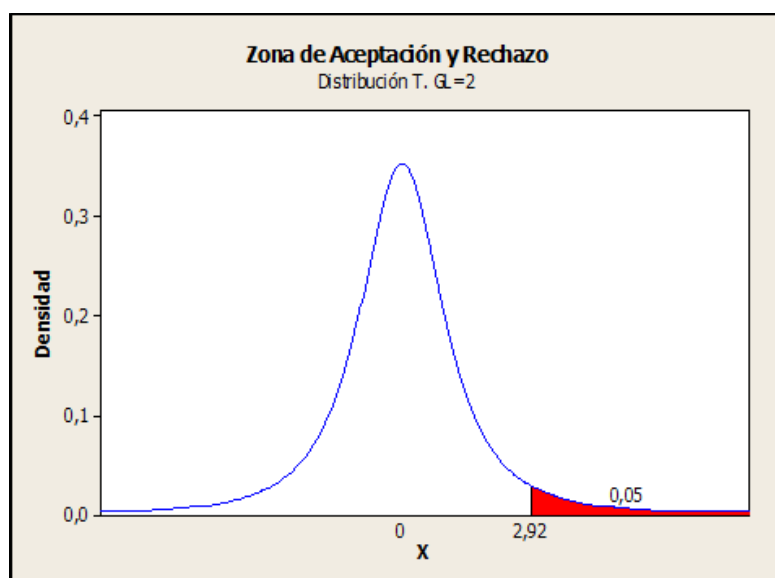


**ANEXO No. 3 COMPARACIÓN DE PESOS DEL GRUPO CON ALOXANO MÁS ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA EN DOSIS BAJAS, EN ZONA DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO A UNA COLA.**

$$H_0: \text{peso inicial} \leq \text{peso final}$$

$$H_1: \text{peso inicial} > \text{peso final}$$

	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)
Media	30,67	26,13
Estadístico t	68,00	
P(T<=t) una cola	0,000108	
Valor crítico de t	2,92	

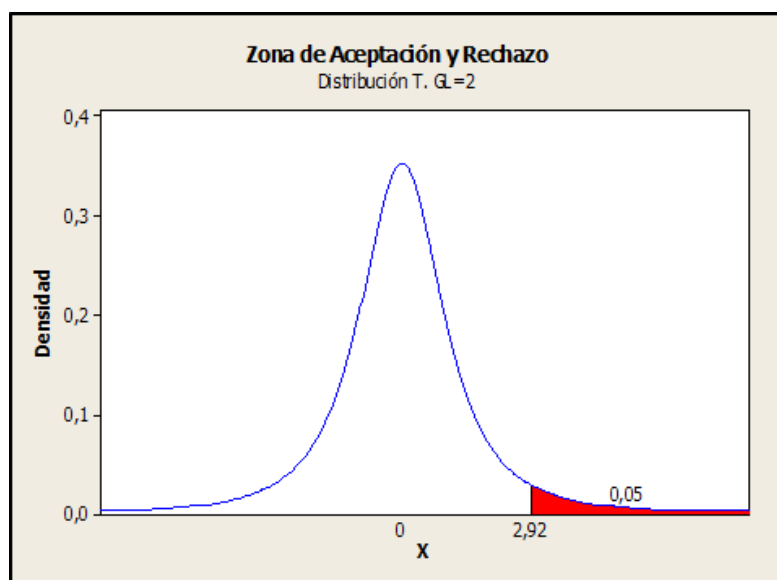


**ANEXO No. 4 COMPARACIÓN DE PESOS DEL GRUPO CON ALOXANO MÁS ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA EN DOSIS ALTAS, EN ZONA DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO A UNA COLA.**

$H_0$ : peso inicial  $\leq$  peso final

$H_1$ : peso inicial  $>$  peso final

	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)
Media	30,7	17,7
Estadístico t	225,167	
P(T $\leq$ t) una cola	9,86E-06	
Valor crítico de t	2,92	

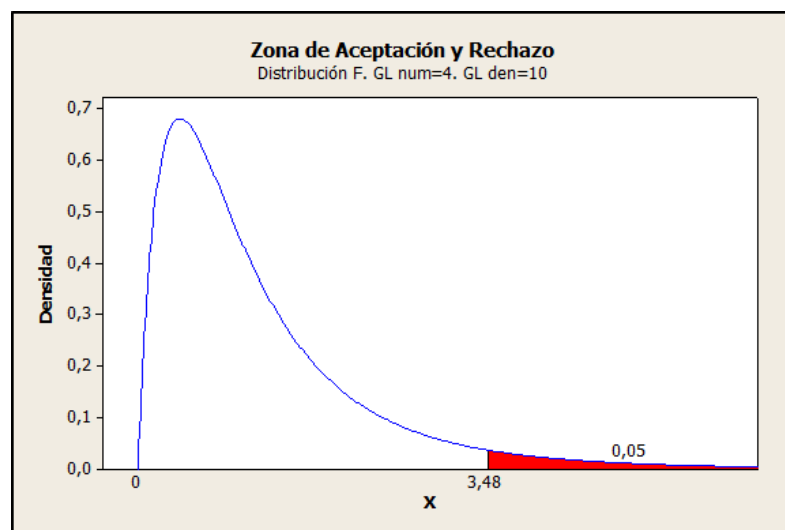


**ANEXO No. 5 REGIÓN DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO DEL ANÁLISIS DE VARIANZAS DEL GRUPO 2, DURANTE EL PROCESO DE EXPERIMENTACIÓN.**

**$H_0$ :** *No existe diferencia significativa en el nivel de glucosa de los ratones en los diferentes grupos.*

**$H_1$ :** *Al menos dos grupos presentan diferente nivel de glucosa*

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Prueba F	Valor crítico para F	Valor p
Entre grupos	4,27	4	1,067	1,6	3,478	0,249
Dentro de los grupos	6,67	10	0,667			
Total	10,93	14				



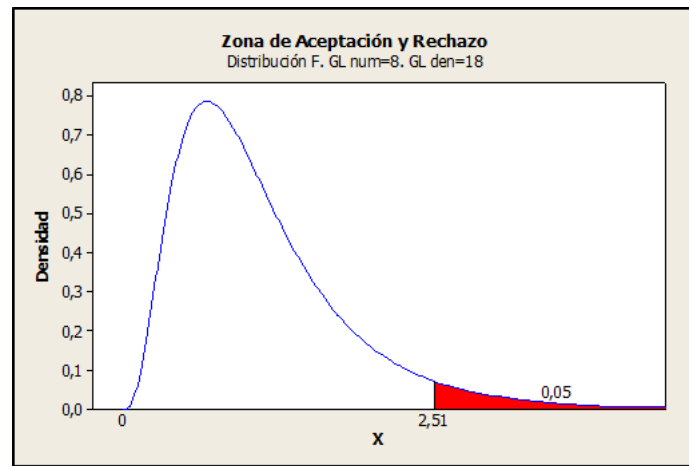
El estadístico de prueba (1,6) es menor que el valor crítico (3,47) por lo que se procede a aceptar  $H_0$ , es decir, la media del nivel de glucosa es el mismo en los diferentes días de experimentación.

**ANEXO No. 6PRUEBA DE TUKEY AL 5% Y REGIÓN DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO DEL ANÁLISIS DE VARIANZAS DEL GRUPO 3, DURANTE EL PROCESO DE EXPERIMENTACIÓN.**

$H_0$ : No existe diferencia significativa en el nivel de glucosa de los ratones en los diferentes grupos.

$H_1$ : Al menos dos grupos presentan diferente nivel de glucosa

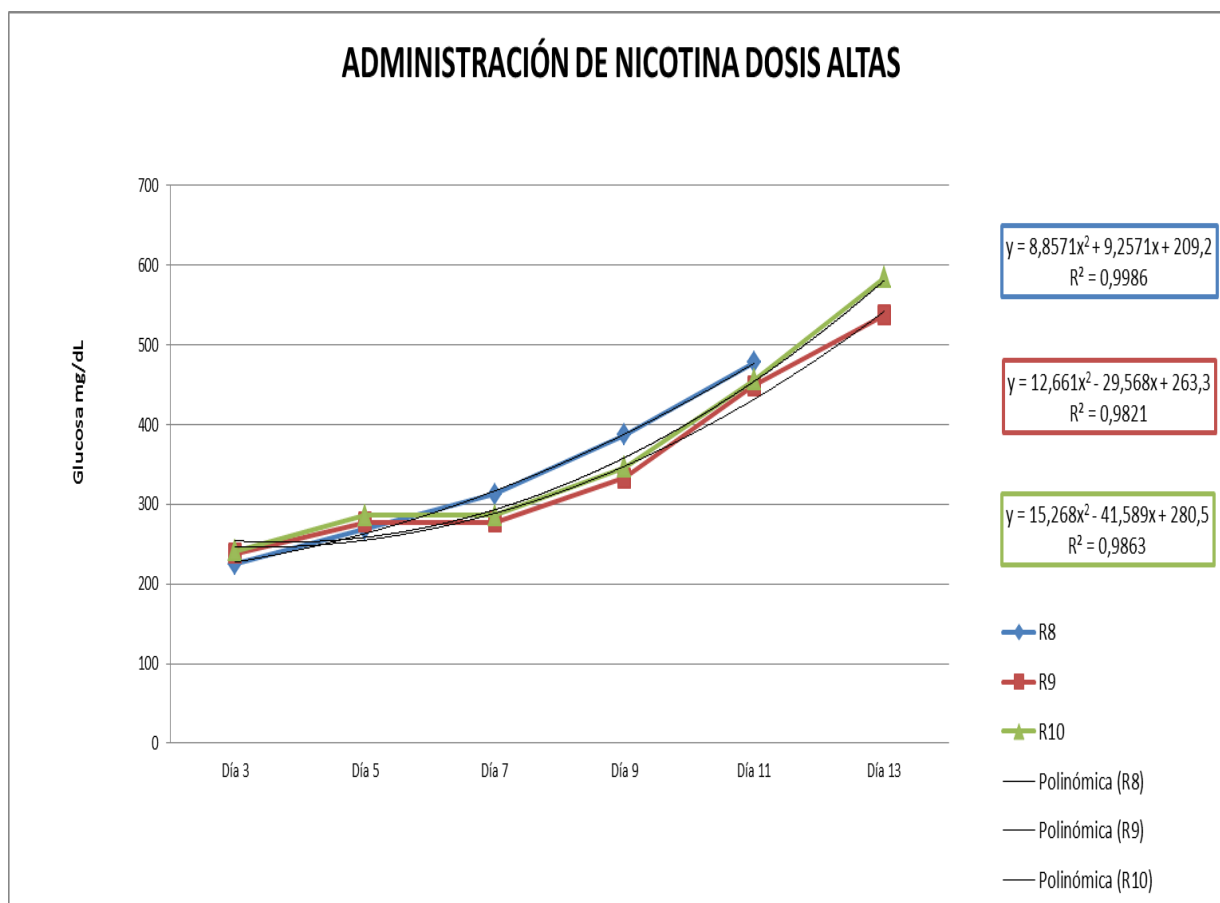
Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Prueba F	Valor crítico para F	Valor p
TIEMPO	13540,96	8	1692,62	236,79	2,51	1.24E-16
ERROR	128,67	18	7,15			
TOTAL	13669,63	26				



PRUEBA DE TUKEY							
GRUPOS	N	Subconjunto					
		1	2	3	4	5	6
30 MIN	3	150					
2 HORAS	3	150,7					
Día 3	3	153,3	153,3				
Día 5	3	154	154				
Día 7	3		159	159			
Día 9	3			165			
Día 11	3				176,3		
Día 13	3					198	
Día 15	3						217,3
Sig.		0,6627	0,2538	0,1984	1	1	1



**ANEXO No. 7 REGRESIÓN LINEAL DE LOS VALORES DE GLUCOSA MAYORES A 600 mg/dL**

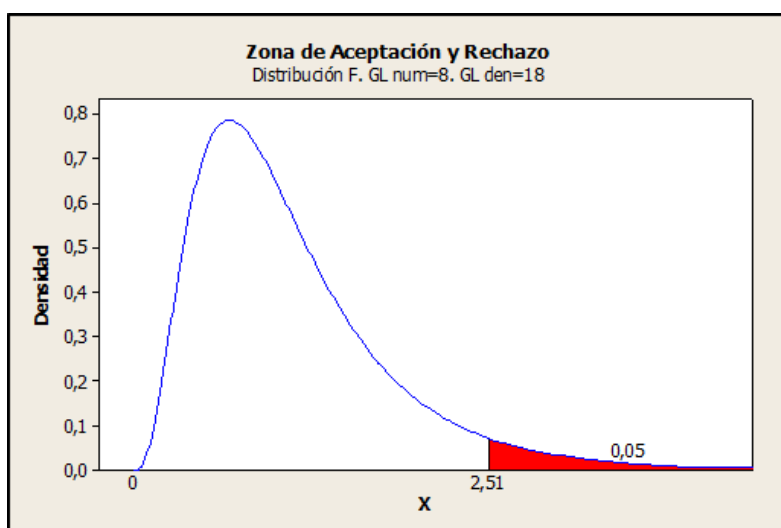


**ANEXO No. 8 PRUEBA DE TUKEY AL 5% Y REGIÓN DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO DEL ANÁLISIS DE VARIANZAS DEL GRUPO 4, DURANTE EL PROCESO DE EXPERIMENTACIÓN.**

$H_0$ : No existe diferencia significativa en el nivel de glucosa de los ratones en los diferentes grupos.

$H_1$ : Al menos dos grupos presentan diferente nivel de glucosa

TABLA DE ANOVA						
Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Prueba F	Valor crítico para F	Valor p
TIEMPO	851994,963	8	106499,3704	297,73069	2,510157895	1.61E-17
Error	6438,666667	18	357,7037037			
Total	858433,6296	26				



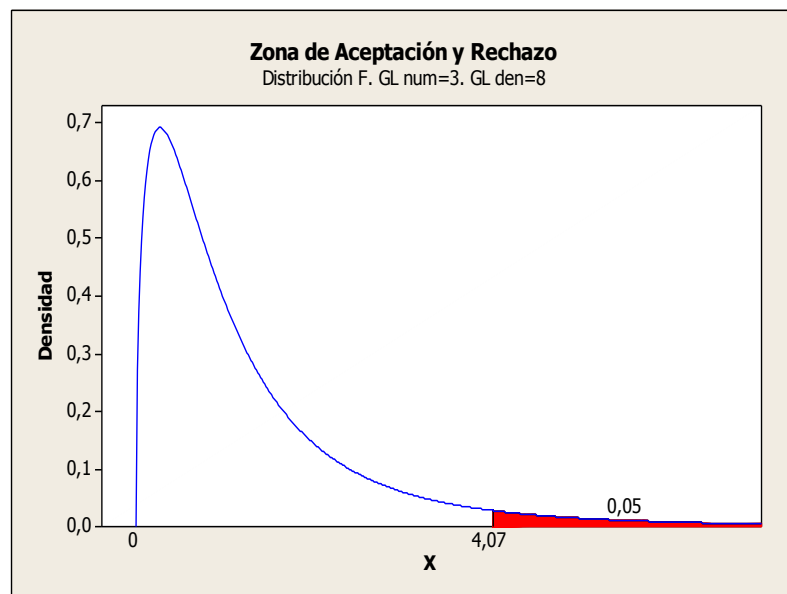
PRUEBA DE TUKEY								
GRUPOS	N	Subconjunto						
		1	2	3	4	5	6	7
30 MIN	3	154,3						
2 HORAS	3	159,7						
DÍA 3	3		234,7					
DÍA 5	3		277,3	277,3				
DÍA 7	3			292				
DÍA 9	3				355,3			
DÍA 11	3					461		
DÍA 13	3						568,3	
DÍA 15	3							707,7
Sig.		1,0000	0,1938	0,9861	1	1	1	1

**ANEXO No. 9 REGIÓN DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO DEL ANÁLISIS DE VARIANZAS AL FINAL DE LA EXPERIMENTACIÓN.**

$H_0$ : No existe diferencia significativa en el nivel de glucosa de los ratones en los diferentes grupos.

$H_1$ : Al menos dos grupos presentan diferente nivel de glucosa

TABLA ANOVA						
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Prueba F	Valor crítico	Valor p
Grupos	738378,92	3	246126,306	1044,01402	4,066	$1,036 \cdot 10^{-10}$
Error	1886	8	235,75			
Total	740264,92	11				



El nivel de glucosa se mantiene constante en todo el tratamiento, es por ello que se duplicó el valor del grupo control blanco para facilitarlos cálculos estadísticos, en donde estos no influyen en el resultado final.